

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft I
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. H. D. Cremer

Studien zur Frage der Beeinflussung
der Stickstoff- und Fettbilanz durch Cyclamat
bei wechselnder Kostzusammensetzung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Ekkehard Oswald
aus Hamburg

Gießen 1970

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft I
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. H. D. Cremer

Studien zur Frage der Beeinflussung
der Stickstoff- und Fettbilanz durch Cyclamat
bei wechselnder Kostzusammensetzung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Ekkehard Oswald
aus Hamburg

Gießen 1970



Dekan: Prof. Dr. E. Habermann

Referent: Prof. Dr. H. Hofmann

Korreferent: Prof. Dr. Frimmer

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	1
B. Übersicht über die durchgeführten Versuche	9
C. Allgemeine Methodik	11
I. Versuchstiere	11
II. Tierhaltung	11
III. Versuchsablauf	12
IV. Zusammensetzung des Grundfutters	12
V. Futter und Trinkwasserversorgung	17
D. Bilanzmethodik	19
I. Beschreibung der Stoffwechselkäfige	19
II. Konservierung des Urins	20
III. Konservierung des Kots	20
IV. Bestimmung des Urinstickstoffs	21
V. Bestimmung von Kotstickstoff und Kotfett	22
VI. Erläuterungen zur statistischen Berechnung	24
E. Versuchsergebnisse	26
F. Diskussion der Versuchsergebnisse	40
G. Zusammenfassung	54
H. Literaturverzeichnis	56

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Als Süßstoffe bezeichnet man alle künstlich hergestellten Stoffe, die als Süßmittel dienen und höhere Süßkraft als Saccharose, aber nicht entsprechenden Nährwert besitzen. Sie stellen also nur im Bezug auf die Süßkraft einen Zuckerersatz dar.

Als erster künstlicher Süßstoff wurde im Jahre 1879 das Saccharin entdeckt und 1900 in den Handel gebracht. Seit dieser Zeit, besonders aber in den letzten Jahren, nahmen die Anwendungsmöglichkeiten für Süßstoffe und ihre Bedeutung auf dem medizinisch-therapeutischen als auch auf dem ernährungswissenschaftlichen Sektor ständig zu. Neben dem Saccharin und dem Dulcin finden heute die "Cyclamate" als Süßstoffe breite Verwendung. Andere Süßstoffe, wie m-Nitralin, m-Nitralinderivate, Suosan, S 23/46 (Süßhilfe) und Steviosid konnten sich entweder infolge ihrer toxischen Wirkung (Methämoglobinbildner), ihrer ungenügenden Back- und Kochbeständigkeit oder aber infolge der hohen Herstellungskosten nicht durchsetzen. Die Entdeckung der "Cyclamate" erfolgte im Jahre 1937 durch M. SVEDA, ihre Einführung als Süßstoff 1952 durch die Abbot Laboratories, Illinois.

Als Cyclamate werden insbesondere die Na- und Ca-Salze der Cyclohexylsulfaminsäure bezeichnet (52). Gegenüber dem Saccharin haben sie einen geringeren Nebengeschmack und sind vor allem bei der Zubereitung von Nahrungsmitteln beständiger, so daß die Anwendungsbreite größer ist (12, 42). Da die Cyclamate koch- und backfest sind, ist es möglich, sie zur Herstellung von Backwaren zu verwenden. BECK (2) untersuchte die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Cyclamate und bestätigte die guten Anwendungsmöglichkeiten. Die Unempfindlichkeit gegen Temperatureinwirkungen, gegen Licht und Luftsauerstoff, die gute Wasserlöslichkeit lassen die Cyclamate für die pharmazeutische

sowie die Lebensmittelindustrie und zum Gebrauch im Haushalt damit sehr geeignet erscheinen.

Allerdings ist die Süßkraft der Cyclamate nicht so stark wie die des Saccharins (1 : 10), dagegen aber 30 mal stärker als die der Saccharose (42). Es besteht aber in Lösungen eine Konzentrationsabhängigkeit. Eine 1 %ige Cyclamatlösung besitzt die maximale Süßkraft, die durch weitere Konzentrationserhöhung nicht verstärkt werden kann. Diese Eigenschaft bringt die Gefahr einer Überdosierung beim Gebrauch im Haushalt mit sich, wenn infolge von Unwissenheit eine höhere Süßkraft durch erhöhten Zusatz von Cyclamat erstrebt wird. Besondere Beachtung muß man der Tatsache zuwenden, daß Cyclamat relativ ohne Nebengeschmack in weit höheren Konzentrationen als 1 % noch süßend wirksam ist, wenn man es Fruchtsäften zusetzt. Hier spielen vor allem Grapefruitsäfte, Coca-Cola und andere Getränke eine Rolle, die der Angelsachse als Soft-Drinks bezeichnet. Im Laufe der letzten Jahre sind nach durchgeführten Untersuchungen in den USA 450 Millionen Kisten mit Soft-Drinks hergestellt worden, die mit Cyclamat gesüßt wurden.

Vom medizinischen Standpunkt aus besteht hier das Bedenken vor allen Dingen dann, wenn Kinder in heißeren Klimazonen täglich größere Mengen (mehr als 1 Liter) der mit Cyclamat gesüßten Soft-Drinks zu sich nehmen. In solchen Fällen wäre es durchaus denkbar, daß beispielsweise eine Beeinflussung des Wachstums auftreten könnte, wie wir sie im Tierexperiment regelmäßig beobachten können.

Um Überdosierungen bzw. Nebenwirkungen, sowie den Nachgeschmack bei erhöhten Konzentrationen zu vermeiden, werden heute Kombinationen von Süßstoffen angeboten (51). Diese Süßstoffkombinationen bestehen ausschließlich aus Cyclamat und Saccharin in einem Verhältnis von 1 : 9. Die Gemische schmecken in mäßigen

Konzentrationen süßer als nach der Süßkraft beider Komponenten zu erwarten wäre. Diese Eigenschaft beruht darauf, daß die Süßkraft eines Mittels in stärkeren Konzentrationen relativ abnimmt und für den gleichen Süßeffect geringere Mengen der einzelnen Substanzen eines Gemisches ausreichend sind. Gleichzeitig kommt es dadurch zur Einsparung von Süßstoffen (41, 48, 51).

Anwendungsgebiete der Süßstoffe:

In der Medizin kommen Krankheiterscheinungen vor, bei denen sich der Verzehr von Saccharose verbietet oder zumindest eingeschränkt werden sollte. Als erstes sind hereditäre Enzymopathien zu nennen, die Störungen des KH-Stoffwechsels darstellen:

1. Fructose Intoleranz
2. Saccharose Intoleranz
3. Monosaccharid-Malabsorption

Weite Verbreitung finden Süßstoffe bei Diabetikern, da sie Kohlenhydrate nicht in unkontrollierter Menge zu sich nehmen dürfen (33).

In einer weiteren Gruppe von Erkrankungen wird eine eingehende Mäßigung im Verzehr von Saccharose angeraten. Es handelt sich dabei um die sogenannten Zivilisationskrankheiten wie

1. Caries
2. Cardiovasculäre Erkrankungen (35, 54)
3. Übergewicht und Folgeerkrankungen (27).

Da gleichzeitig mit dem Verzicht auf Saccharose die Empfindung "süß" verloren geht, ist es angebracht, in diesen Fällen die Süßstoffe als Ersatz heranzuziehen. Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß die Süßstoffe selbst keine therapeutische Wirkung entfalten, aber es ermöglichen, die Therapie infolge der Geschmackskorrigenz konsequent durchzuführen.

Weitere Anwendungsgebiete sind in der Lebensmittelindustrie zu finden, die vor allen Dingen Süßstoffe bei der Herstellung diätetischer Lebensmittel verwendet. Auch die Getränkeindustrie macht - wohl hauptsächlich aus wirtschaftlichen Erwägungen - ausgiebig von Süßstoffen Gebrauch. Die pharmazeutische Industrie verarbeitet die Süßstoffe vorwiegend als Geschmackskorrigenzien.

Das Verhalten von Cyclamat im Stoffwechsel war bereits Gegenstand häufiger Untersuchungen, konnte jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt werden. Bei Versuchen an Ratten und Kaninchen wurde festgestellt, daß oral verabreichtes Cyclamat zu 50 - 70 % wieder im Kot erscheint, also nicht resorbiert wird, da das Cyclamat endogener Herkunft hierbei bereits berücksichtigt wurde (20, 25, 26, 34, 49). Resorbiertes Cyclamat wurde innerhalb von 12 Stunden zu 80 - 90 % im Urin ausgeschieden (1, 44). Das Ergebnis wurde bestätigt durch MILLER (34), der die Versuchstiere 24 Stunden nach Gabe einer Testdosis tötete und den Cyclamatgehalt des Tierkörpers bestimmte. Er fand lediglich noch 0,41 %. Nach diesen Ergebnissen wird oral verabreichtes Cyclamat bereits nach wenigen Stunden praktisch gänzlich über Kot und Urin ausgeschieden. DERSE u. DAUN (6) sind die einzigen, die hohe Mengen Cyclamats in Kot und Urin nicht wiedergefunden haben.

KOJIMA u. ICHIBAGASE (26) sowie LEAHY (29, 30) fanden im Urin von Versuchstieren und auch vom Menschen einen Metaboliten des Cyclamats, der durch Abspaltung einer Stickstoff-Schwefelver-

bindung entstanden war, das Cyclohexylamin. Da nach MILLER (34) 98 - 99 % des Cyclamats im Urin in unveränderter Form wieder ausgeschieden werden, kann die Menge des gebildeten Cyclohexylamins nur gering sein. Es steht fest, daß es unter den verschiedenen Versuchstieren wie auch innerhalb einzelner Spezies z.B. bei verschiedenen Menschen zu ganz unterschiedlich starker Cyclohexylaminbildung kommt. Es gibt, wie in unserem Institut in Versuchen am Menschen nachgewiesen werden konnte, Versuchspersonen, die sehr stark Cyclohexylamin bilden und solche, bei denen die Entstehung des Metaboliten eine nur untergeordnete Rolle spielt. Neuerdings ist ein Fall beschrieben worden, bei dem angeblich 40 % des zugeführten Cyclamats in Cyclohexylamin umgewandelt wurde (43).

Bei dem Cyclohexylamin handelt es sich um eine Verbindung, die zu der Gruppe der sympathicomimetisch wirkenden Catecholamine zu rechnen ist. Diese Verbindung ist akut wirksam und führt zu erheblicher Stoffwechselsteigerung und anderen für sympathicomimetisch wirkende Pharmaka typischen Erscheinungen wie Tachykardie, Mydriasis u.a. CLASSEN, MARQUARDT u. SPÄTH (5) konnten das Cyclohexylamin und seine pharmakologische Wirkung nachweisen und auch recht genau beschreiben. Wie alle Derivate des Catecholamins wird auch Cyclohexylamin leicht oxidiert und dadurch eliminiert (3). Sogar größere Mengen zugeführten Cyclohexylamins werden vom Organismus ohne weiteres entgiftet, so daß die Ursache der nachweisbaren Ausscheidung bisher keine Deutung finden konnte.

Von gewisser Bedeutung erscheinen Untersuchungen, wie sie TANAKA (45, 46) an trächtigen Tieren unter der Einwirkung von Cyclamat durchführte. In Generationsversuchen an trächtigen Ratten, Mäusen und Schweinen ergaben sich bei hohen Dosen von Cyclamat teratogene Effekte, wie Hemmungsmißbildungen und Anomalien der Foeten.

Auch waren in den meisten Fällen Wurfgröße und der Gewichtszuwachs der Jungtiere vermindert (7). Die Arbeit von TANAKA wurde inzwischen in umfangreichen Versuchen widerlegt, in denen keinerlei teratogene Effekte beschrieben worden sind (31, 32). Auch PALMER u. FLETCHER (40) konnten bei Versuchen an Kaninchen diese Effekte nicht bestätigen. Endgültig ist die Frage nach der teratogenen Wirkung noch nicht geklärt. So können wir darauf hinweisen, daß GHIANI, ACCAME u. MURATORI (13) über Mißbildungen von Hühnerembryonen berichtet haben. Diese Versuche sind jedoch noch nicht bestätigt worden.

In kurzfristigen Versuchen, die über die akute Wirkung des Cyclamats Aufschluß geben sollten, waren die Ergebnisse alle unspezifisch, d.h. sie konnten nicht mit Sicherheit primär auf das Cyclamat selbst zurückgeführt werden. Langfristige Versuche, die den praktischen Bedürfnissen mehr Rechnung tragen, da Süßstoffe oft jahrelang regelmäßig verwendet werden, zeigten dagegen Nebenwirkungen, die mit der Cyclamatgabe ursächlich im Zusammenhang standen und auch immer wieder bestätigt wurden. Bei einer Testdosis von 5 % Cyclamat und mehr kam es zu Durchfällen, der Gewichtszuwachs war vermindert und der Wasserverbrauch extrem gesteigert (8, 9, 36, 37, 42). RICHARDS (42) stellte sogar schon bei 1 %iger Cyclamatzufuhr eine Wachstumsverminderung fest. Bei 10 %iger Dosierung traten leichte pathologische Veränderungen an Nieren, Pankreas und Hoden auf. Das Gewicht von Nebennieren, Gonaden und Schilddrüse war erhöht (36, 37). VALACH (50) hat in unserem Institut in Bestätigung anderer Autoren gefunden, daß unter der Zufuhr von Cyclamat eine mächtige Vergrößerung des Caecum auftritt. Auch HOFMANN (18) hat sich mit dieser Frage eingehend beschäftigt und im Rahmen einer größeren gutachtlichen Arbeit über die Cyclamateinwirkung eine Theorie für das Entstehen dieser Veränderung aufgestellt. Es ist hierbei interessant, daß die Caecumveränderung reversibel ist und daß der Blinddarm der Versuchstiere bereits 48 Stunden nach dem Absetzen der Testdosis

wieder seine normale Form und Größe hat. Auch bei der Schilddrüse wurde eine Vergrößerung festgestellt.

Die laxierende Wirkung von Cyclamat, die man in Stoffwechseluntersuchungen immer wieder fand (8, 9, 15, 20, 42), wurde auch am Menschen beobachtet (38, 44). Wir haben das Auftreten reisswasserähnlicher Durchfälle und Gewichtsstillstand stets bei ungefähr 2 % Cyclamatzugabe zum Futter beobachtet. Der Mensch scheint nach Versuchen in unserem Institut demgegenüber anfälliger zu sein. In Selbstversuchen traten nach 5 g Cyclamatzugabe täglich nur bei einem Teil der Versuchspersonen Durchfälle auf. Bei allen waren jedoch 10 g täglich wirksam genug, um eine Diarrhoe hervorzurufen. Dies entspricht einer Konzentration von etwa 1 % Cyclamat in der Nahrungszufuhr.

Einige Autoren beschrieben auch Lichtallergien, die durch Cyclamat, aber auch Saccharin, beim Menschen ausgelöst wurden (22, 24, 28, 47).

HÖTZEL u. BUNGHARDT (4, 16) faßten in mehreren Arbeiten die Ergebnisse der Cyclamatforschung zusammen. Sie kamen zu dem Resultat, daß eine Aufnahme von nicht mehr als 1 - 2 g Cyclamat täglich für den Menschen sicher unschädlich sind.

In letzter Zeit sind jedoch Arbeiten bekannt geworden, in denen die cancerogene Wirkung des Cyclamats sowie seines Metaboliten Cyclohexylamin untersucht wurde. OSER (39) fand, allerdings bei sehr hohen Dosen von Cyclamat, krebsartige Wucherungen an der Harnblase seiner Versuchstiere. Obwohl die Ergebnisse noch nicht bestätigt wurden, veranlaßten sie die amerikanische Gesundheitsbehörde, den Verkauf von Cyclamaten vorerst stark einzuschränken.

Die folgende Arbeit geht zurück auf Ergebnisse, die von VALACH (50) im Institut für Ernährungswissenschaft I in Giessen ge-

funden wurden. VALACH (50) stellte in seiner Untersuchung über die Nährstoffverwertung bei unterschiedlichen Cyclamatgaben fest, daß die Futterverwertung bei Altrominverfütterung bereits bei geringerer Cyclamatgabe verschlechtert war, als bei halb-synthetischer Kost. Dies gab Anlaß zu der Vermutung, daß ein Zusammenhang zwischen der Cyclamateinwirkung und der Zusammensetzung des Grundfutters besteht. Da beide Futtersorten speziell im Fett- und Rohfasergehalt differieren, erschien es wünschenswert, zu untersuchen, ob durch unterschiedlichen Fett- und Rohfasergehalt in der Kost unter Cyclamateinwirkung Veränderungen in der Stickstoff- und Fettbilanz festzustellen sind.

In der folgenden Arbeit berichte ich über diese Experimentaluntersuchungen.

B. ÜBERSICHT ÜBER DIE DURCHGEFÜHRTEN VERSUCHE

In zwei Versuchsteilen, bestehend aus jeweils drei Bilanzversuchen, wurde der Einfluß von Cyclamat auf die Fett- und Stickstoffausscheidung bei unterschiedlichem Fett- und Rohfasergehalt in der Kost untersucht. Als weitere Kriterien für die Cyclamatverträglichkeit galten die Beschaffenheit des Kots, die Gewichtszunahme und der Trinkwasserverbrauch. Alle Versuche erfolgten mit den gleichen Tieren, so daß ein direkter Vergleich zwischen den einzelnen Versuchen infolge des Alters- und Gewichtsunterschiedes nicht in allen Fällen möglich war. In allen Versuchen erhielten die Cyclamat- gegenüber den Kontrolltieren zusätzlich 2 % Cyclamat im Futter.

Im ersten Teil wurde der Fettgehalt der Kost in folgender Weise variiert:

1. Versuch 7.0 % Fett (Normalkost)
2. Versuch 14.0 % Fett
3. Versuch 0.5 % Fett

Es sollte hierbei festgestellt werden, ob die Cyclamatverträglichkeit in irgendeiner Weise von der Fettzufuhr beeinflußt wird.

Im zweiten Versuchsteil wurde der Kost ein unterschiedlicher Rohfasergehalt zugesetzt, um seinen Einfluß auf die Cyclamatverträglichkeit zu testen.

1. Versuch 5 % Rohfaser
2. Versuch 10 % Rohfaser
3. Versuch 0 % Rohfaser

In allen Bilanzversuchen erfolgte die Bestimmung des Kotfettes, sowie des Stickstoffes im Kot und Urin, um etwaige Resorptionsanomalien infolge der Cyclamateinwirkung zu sichern. Zusätzlich

wurde der Trinkwasserverbrauch und der Gewichtszuwachs der Tiere bestimmt. Nach Abschluß der Versuche wurden die Tiere sezziert und das Gewicht von Leber, Caecum (leer) und Schilddrüse festgestellt.

C. ALLGEMEINE METHODIK

I. Versuchstiere

Als Versuchstiere fanden weiße männliche Ratten Verwendung.⁺⁾
Es wurden nur männliche Tiere benutzt, da sie infolge ihrer stabileren Konstitution gleichmäßigere Versuchsergebnisse liefern. Die Tiere waren bei Ankunft etwa drei Wochen alt und durchschnittlich 38 g schwer.

II. Tierhaltung

24 der Tiere kamen zur Eingewöhnung sofort in Stoffwechselkäfige, wie sie in unserem Institut von WILMES (53) weiterentwickelt und eingehend beschrieben worden sind. Die restlichen Tiere wurden ebenfalls einzeln in maschendrahtbezogenen Käfigen gehalten. Alle Tiere wurden in gleicher Weise vorbehandelt, so daß vor Versuchsbeginn jederzeit ein erkranktes Versuchstier ersetzt werden konnte.

Jedes Tier erhielt bis zum Versuchsbeginn ein Vorfutter, das zur einen Hälfte aus halbsynthetischer Kost, zur anderen aus Haferflocken bestand. Das Vorfutter sowie das Trinkwasser wurden ad libitum gegeben. Im Tierstall sorgte eine Automatik mittels einer Umwälzanlage für ständige Frischluftzufuhr. Die Temperatur wurde während der Versuchsserie ebenfalls automatisch zwischen 23° und 26°C gehalten. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug 50 - 60 %. Durch Leuchtröhren wurde ein 12ständiger Tag-

+) Pathogenfreie Sprague-Dawley-Ratten, Willi Gassner,
8012 Ottobrunn/München, Mozartstraße 82

und Nachtrhythmus aufrechterhalten.

III. Versuchsablauf

Der eigentliche Bilanzversuch währte eine Woche, in der Kot und Urin getrennt aufgefangen und gesammelt wurden. Dieser Bilanz ging jeweils eine einwöchige Vorperiode voraus. Diese Zeit diente einerseits der Gewöhnung an das Futter (in der Versuchsgruppe bereits mit 2 % Cyclamat), andererseits sollte die Futtermenge bestimmt werden, die das Tier mit dem geringsten Freßvermögen aufnehmen konnte (Festlegung der limitierten Fütterung).

Bei Beginn der Vorperiode des ersten Versuches wurden die augenblicklich schwächsten Tiere ausgesondert. Für den Versuch wurden zwei Gruppen gebildet, die jeweils aus 12 Tieren bestanden, wobei die eine Gruppe stets als Kontrolle diente. Es war hierbei darauf zu achten, daß das Ausgangsgewicht im Mittel bei beiden Gruppen annähernd gleich war, da u.a. der Gewichtszuwachs ein Kriterium für die Cyclamatverträglichkeit darstellte. Diese Bedingung konnte bei einem Wert von 63,5 g (Kontrollgruppe) und 62,6 g (Versuchsgruppe) als erfüllt angesehen werden.

Wägungen der Tiere wurden am Beginn und Ende jeder Bilanz vorgenommen. Eine häufigere Gewichtsbestimmung während der Bilanz hatte keinen Sinn, da es während des Wägevorganges häufig zum Absetzen von Exkrementen kam, die der Analyse verloren gegangen wären.

IV. Zusammensetzung des Grundfutters

Die Herstellung der halbsynthetischen Kost erfolgte nach HÖTZEL, der sie für den Gebrauch in unserem Institut in folgender Weise

beschrieben hat. Dabei waren für 100 g Kost folgende Bestandteile notwendig:

60,0 g Rohrzucker (30 g gemahlen)
20,0 g Casein
5,8 g Reisstärke
7,0 g Schweineschmalz (mit Vit. A, E, D)
4,0 g Mineralstoffmischung
0,2 g Methionin mit 0,8 g Reisstärke gemischt
0,2 g Cholinchlorid
2,0 g Reisstärke (mit Vit. B-Komplex, C u. H)

Die fettlöslichen Vitamine A, E, D wurden dem flüssigen Schweineschmalz in folgenden Mengen zugesetzt:

Vitamin A-palmitat	1000 I.E.
Vitamin D (D ₂ -ölig)	130 I.E.
Vitamin E, DL- -Tocopherolacetat	10 mg

Die Vitamine des B-Komplexes, Vitamin C und H wurden der Kost in 200 %iger Form beigemischt, um von vornherein einem Vitaminmangel entgegenzuwirken. Somit ergab sich für die Vitaminmischung folgende mengenmäßige Zusammensetzung, bezogen auf 100 g Futter:

Thiamin	0,4 mg
Riboflavin	0,6 mg
Pyridoxin	0,6 mg
Pantothensäure	2,0 mg
Ionosit	8,0 mg
Cobalamin	0,0016 ml
Niacin	6,0 mg
PAB	12,0 mg
Biotin	0,04 mg

Folsäure	0,08 mg
Menadion	0,03 mg
l-Ascorbinsäure	20,0 mg

Cobalamin wurde in wässriger Lösung mit der Reisstärke vermengt.

Die Mineralstoffmischung wurde in folgender Weise hergestellt:

I. 222,2 g Zitronensäure in 500 ml heißem Aqua dest. gelöst und zu II. hinzugefügt

II. 269,6 g CaCO_3
57,8 g MgCO_3 (40 % MgO)
68,4 g Na_2CO_3 , wasserfrei
282,6 g K_2CO_3 (vorher bei 180°C getrocknet)

III. dann wurden in Aqua dest. gelöst:

40 mg KJ
234 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$
124 mg NaF
88 mg $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$

III. wurde der vereinigten Mischung von I. und II. hinzugegeben, dann wurden

IV. in 251, 4 ml HCl (36 %ig)

14,88 g Fe-citrat (17,5 % Fe) gelöst
und unter Rühren der Mischung von I, II und III hinzugegeben, dann wurden

V. 10,4 ml H_2SO_4 (96 %ig) zu

10,0 ml Aqua dest. gegeben und diesem

140,4 ml H_3PO_4 (86,5 %ig) hinzugefügt.

V. wurde der Mischung aus I, II, III und IV langsam unter ständigem Umrühren zugegeben. Bei 90 - 100° C wurde die Endmischung getrocknet und dann zu Pulver zermahlen.

Dem Futter der Versuchstiere wurden zusätzlich 2 % Cyclamat zugegeben, wobei wir $\overline{aa}$ partis aequ. Na- und Ca-Cyclamat mischten.⁺⁾

Da die Kontrollgruppe wie auch die Versuchsgruppe gleiche Mengen an Futter erhielten, ergab sich, daß das Futter der Versuchstiere kalorisch minderwertiger als das der Kontrolltiere war. Die Kalorienverminderung war jedoch so gering (1,7 - 2,2 %), daß der Einfluß auf die Gewichtszunahme für die Untersuchungen praktisch nur eine untergeordnete Rolle spielte (s. Tabelle I). Es ist jedoch anzunehmen, daß hinsichtlich der Gewichtsverminderung die Differenz 2 % überschreiten dürfte, da die Kalorien für den Erhaltungsstoffwechsel noch abzuziehen wären. Sollte hierdurch aber eine geringe Gewichtsveränderung bei der Versuchsgruppe infolge der Cyclamateinwirkung überdeckt worden sein, so wäre sie mit Sicherheit nicht statistisch signifikant gewesen. Eine starke Veränderung dagegen wäre immer erkennbar gewesen und könnte nur auf die Cyclamateinwirkung zurückzuführen sein.

⁺⁾ Na-Cyclamat wurde uns freundlicherweise von "DRUGOFA-KÖLN", Ca-Cyclamat von den "BAYER-WERKEN" Leverkusen zur Verfügung gestellt.

Tab. I: Kaloriengehalt des Versuchsfutters

	1.Vers.	2.Vers.	3.Vers.	4.Vers.	5.Vers.	6.Vers.
Futterzufuhr/ Bilanz	56 g	70 g	70 g	70 g	91 g	91 g
Kaloriengehalt in Kcal o h n e Cyclamat	240	326	277	286	353	391
Kaloriengehalt in Kcal m i t Cyclamat	236	319	271	280	346	383
Differenz in %	1,7	2,1	2,2	2,1	2,0	2,0

Im 1. und 6. Versuch wurde das Futter in der eben beschriebenen Zusammensetzung verabreicht. In den anderen Versuchen wurde der Zucker-, Fett- und Rohfasergehalt in folgender Weise abgewandelt (s. Tabelle II).

Tab. II: Futterzusammensetzung

	1.Vers.	2.Vers.	3.Vers.	4.Vers.	5.Vers.	6.Vers.
Zucker	60 g	53 g	66,5 g	55 g	50 g	60 g
Fett	7 g	14 g	0,5g	7 g	7 g	7 g
Rohfaser				5 g	10 g	

Die Angaben beziehen sich auf 100 g Futter.

Die restlichen Bestandteile der Kost wurden in ihrem prozentualen Gehalt nicht verändert. Im 3. Versuch mußte davon abgesehen werden, ein völlig fettfreies Futter herzustellen, da sonst die Versorgung mit fettlöslichen Vitaminen nicht gewährleistet wäre und evtl. Vitaminmangelerkrankungen hätten auftreten können. Aber auch bei ausreichender Vitaminversorgung wäre es infolge Fehlens der Linol- und Linolensäure zu Ausfallserscheinungen wie Wachstumsstillstand oder sogar Gewichtssturz gekommen (14). Nach Mc.KENZIE u. Mc.COLLUM (23) reichen 0,27 % Fett im Futter zu normalem Wachstum aus. Die Tiere waren jedoch lebhafter und wuchsen besser, wenn ihr Futter nicht so extrem fettarm war.

V. Futter und Trinkwasserversorgung

Die Tiere erhielten im 24stündigen Rhythmus eine bestimmt abgewogene Futtermenge, die während der Bilanz täglich gleich war. Da das Fraßvermögen der Tiere dem Alter entsprechend zunahm, wurde die tägliche Futtermenge im 2. von 8 auf 10 g und im 5. Versuch von 10 auf 13 g erhöht. Sie war so bemessen, daß alle Tiere ihren Futternapf leeren konnten. Futter, das durch den Speichel der Tiere mit der Wand und dem Boden des Futternapfes verklebt war, wurde mit einem Spatel gelöst und damit der Verfütterung wieder zugänglich gemacht.

Die Trinkwasserversorgung war während der Versuche nicht eingeschränkt. Der Verbrauch des Trinkwassers wurde täglich in ml bestimmt. Es muß hierbei klargestellt werden, daß der Verbrauch wohl im Durchschnitt zu hoch bestimmt worden ist. Dies lag in der Konstruktion der Trinkwasseranlage begründet. Es war nicht zu vermeiden, daß die Tiere mit ihren Vorderpfoten an der Öffnung des Glasstutzens entlangwischten, somit einen Verlust des Trinkwassers hervorriefen und einen höheren Verbrauch vor-

täuschten. Da aber alle Tiere dieses Verhalten zeigten und damit der verspritzte Anteil des Trinkwassers bei allen etwa gleich groß war, war dieser Nachteil nicht so sehr maßgebend.

D. BILANZMETHODIK

Jede Bilanz erfordert eine Gegenüberstellung von Ein- und Ausfuhr einer bestimmten Substanz. Sie ist ausgeglichen, wenn Aufnahme und Ausscheidung sich die Waage halten. Bei ernährungsphysiologischen Untersuchungen kommt es mitunter nicht so sehr auf die Bilanz als vielmehr auf die Ausnutzung eines Stoffes an, Hierbei muß unterschieden werden zwischen dem nicht resorbierten Nahrungsbestandteil eines Stoffes und dem endogen ausgeschiedenen Anteil, der von dem Gesamtgehalt abgezogen werden muß, um auf die Ausnutzung schließen zu können.

Dies war in der vorliegenden Arbeit nicht beabsichtigt. Es sollte eine Stickstoff- und Fettbilanz aufgestellt werden, wobei der Stickstoff im Kot und Urin getrennt zu bestimmen war. Diese Aufgabe erforderte die Unterbringung der Tiere in Stoffwechselkäfigen, die eine exakte und gleichmäßige Fütterung sowie eine beständige Trennung der Ausscheidungen erlaubten.

I. Beschreibung der Stoffwechselkäfige

Eine kurze Beschreibung der verwandten Käfige, die von WILMES (53) an anderer Stelle eingehend erfolgt ist, sei hier eingefügt. Es handelt sich um durchsichtige, glatte Kunststoffbehälter, deren Boden und Dach durch Maschendrahtnetze verschlossen sind. Unterhalb des Bodens befindet sich ein Trichter, an dessen Stutzen eine Vorrichtung angebracht ist, die zur Trennung von Kot und Urin dient. Der Futternapf ist für die Tiere nur durch einen kurzen Tunnel zu erreichen, der durch eine bewegliche Klappe in seiner Höhe verstellbar ist und der jeweiligen Körpergröße der Tiere angepaßt werden kann. Hierdurch wird weitgehend das Verstreuen von Futter durch die Tiere verhindert. Ein Maschendrahtgitter, das dem Futter im Napf direkt aufliegt,

unterstützt diesen Effekt. In allen Fällen, in denen es trotz dieser Einrichtungen zum Verstreuen des Futters im Tunnel kommt, fällt dieses auf den Tunnelboden, von wo es in den Futternapf zurückgepinselt werden kann. Der Tunnel bietet noch den weiteren Vorteil, daß die Tiere ihre Exkremente nicht im Futternapf absetzen können. Die Trinkwasserversorgung wird durch ein Glasröhrchen ermöglicht, das mit seinem Stutzen durch eine Öffnung der Käfigwand mit dem Innenraum in Verbindung steht.

II. Konservierung des Urins

Der Urin wurde während der Bilanz in Gläsern aufgefangen, die eine 30 %ige H_2SO_4 -Lösung enthielten. Eine Konservierung war angezeigt, da die Bilanz über 7 Tage lief und frei werdendes NH_3 durch die Schwefelsäure sofort gebunden bzw. eine bakterielle Freisetzung von Ammoniak von vornherein verhindert wurde. Der Urinstickstoff war somit vollständig zu erfassen, da Stickstoffverluste auf diese Weise nicht eintreten konnten. Es war jedoch möglich, daß der Urin teilweise im Trichter hängen blieb. Er wurde deshalb täglich mit einer 10 %igen H_2SO_4 -Lösung ausgepinselt, um Urinreste daraus zu entfernen.

III. Konservierung des Kots

Zur Konservierung des Kots durfte keine Schwefelsäure verwendet werden, da es hierdurch zu einer Zerstörung des Kotfettes gekommen wäre. Andererseits mußte das Konservierungsmittel stark genug sein, um eine bakterielle Zersetzung des Koteiweißes und damit ein Freiwerden von Ammoniak zu verhindern. Hierfür schien Methylalkohol das richtige Mittel zu sein, das zudem für die Kottrocknung durch Verdampfen auf dem Wasserbad geeignet war. Ein toxischer Effekt war durch die Verdunstung nicht zu erwarten.

da die Luft durch ständige Umwälzung erneuert wurde. Außerdem waren nur wenige Milliliter notwendig, um die anfallende Kotmenge im Becherglas gerade zu bedecken. In den Fällen, in denen bei den Versuchstieren Diarrhoen auftraten, blieb der Kot bereits im Trichter haften. Mittels eines Spatels wurde der Kot mehrmals täglich abgekratzt und damit der Analyse zugänglich gemacht.

IV. Bestimmung des Urinstickstoffs

Die Stickstoffbestimmung erfolgte im Prinzip nach dem Kjeldahlverfahren, wenn auch in etwas abgewandelter Form. Der Urin jedes Tieres, vermischt mit 30 %iger H_2SO_4 , wurde in 500 ml Kolben filtriert, die mit Aqua dest. aufgefüllt und kräftig geschüttelt wurden. 1 ml der Urinlösung wurde in einen Kjeldahlkolben pipettiert, weiterhin 4 ml konz. H_2SO_4 und eine Spatelspitze eines Selenreaktionsgemisches zugegeben. In einer nach dem Farbumschlag auf grün noch 4 Stunden währenden Veraschung erfolgte der Aufschluß der organischen Substanzen. In einem Destillationsapparat kam es durch Zusatz von NaOH zur quantitativen Freisetzung von NH_3 , das nach Überdestillierung in einer mit einem Kolthoff-Indikator versetzten Borsäurelösung aufgefangen wurde. Mit einer n/70 H_2SO_4 -Lösung erfolgte die Rücktitration bis zur ursprünglichen Färbung der Vorlage.

Für die Berechnung des gesamten Urinstickstoffs galt folgende Formel:

Stickstoffgehalt des Urins in mg = verbrauchte Menge der
n/70 H_2SO_4 in ml $\times$ NF $\times$ 500

NF=Stickstofffaktor (theor.Wert = 0,2)

V. Bestimmung von Kotstickstoff und Kotfett

1. Vorbehandlung des Kots

Der Kot jedes Tieres wurde mit dem bereits als Konservierungsmittel benutzten Methylalkohol zu einer homogenen Masse verrührt und auf dem Wasserbad unter häufigem Umrühren bis zu halbfester Konsistenz eingedampft. Es wurde bewußt kein Trockenkot hergestellt, da sich hierbei die in Methylalkohol gelösten Fette an der Wand des Gefäßes niederschlugen. Sie ließen sich nur unvollständig wieder entfernen und gingen damit der Fettanalyse verlustig. Weitere Vorgänge konnten sich bei vollständiger Kottrocknung nachteilig auswirken: Möglichkeit der Zersetzung, Verdampfen von flüchtigen Fettsäuren, lange Dauer des Trocknens (19). Dies trug dazu bei, daß in Vorversuchen mit Methylalkohol hergestellter Trockenkot gegenüber Frischkot einen Fettmindergehalt von 7 % aufwies.

Beim Eindampfen des Kots bis zur halbfesten Konsistenz war sicher auch mit einem gewissen Fettverlust zu rechnen, der jedoch infolge Fehlergleichheit bei beiden Gruppen für diese Untersuchungen nicht relevant war. Die homogene Kotmasse wurde bei dieser Konsistenz gewogen und für die Stickstoff- als auch Fettbestimmung Proben entnommen.

2. Stickstoffbestimmung

Für die Stickstoffbestimmung im Kot genügte eine Menge von 200 mg, die in einen Kjeldahlkolben gegeben wurde. Die weiteren Vorgänge zur Analyse des Stickstoffgehaltes entsprachen denen der Urinanalyse. Die Formel der Berechnung lautete bei einer vorgegebenen Menge von 200 mg Kot:

Stickstoffgehalt im Kot in mg = verbrauchte Menge an

$$n/70 \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ in ml} \times \text{NF} \times \frac{\text{KM}}{200}$$

NF = Stickstofffaktor

KM = Gesamtkotmenge in mg, der die Probe entnommen wurde.

Es wäre wünschenswert gewesen, den Cyclamatstickstoff im Kot und Urin gesondert zu bestimmen, doch war dieses Vorhaben in unserem Institut aus technischen und finanziellen Gründen nicht zu verwirklichen.

3. Fettbestimmung

Die Fettanalyse erfolgte im Prinzip nach der von VAN DE KAMER (21) angegebenen Weise. Die Methode wurde insofern abgewandelt, als das Ausgangsmaterial der Analyse nicht Gefrierkot sondern der oben beschriebene Kot halbfester Konsistenz darstellte. Die Methode basiert darauf, daß Fettsäuren und Fette fast gänzlich mit Petroläther aus säurehaltigen alkoholischen Lösungen extrahiert werden können. Der einzige Nachteil lag darin, daß zur Untersuchung 4 - 6 g Kot benötigt wurden. Dies stieß bei Bilanzversuchen mit jungen Ratten mitunter auf Schwierigkeiten. So mußte im 1. und 3. Versuch der Kot zweier Tiere gemeinsam untersucht werden, da die notwendige Menge sonst nicht erreicht worden wäre.

Ausführung: 5 g Kot, 10 ml einer 33 %igen KOH-Lösung und 40 ml Äthanol (mit 0,4 % Amylalkohol vergällt) wurden in einem 150 ml Erlenmeyerkolben miteinander gemischt und 20 Minuten unter einem Rückflußkühler gekocht. Hierdurch entstand eine Lösung, die durch Verseifung sowohl die aus neutralen Fetten entstandenen Seifen als auch die Fettsäuren und Seifen enthielt, die ursprüng-

lich im Kot vorhanden waren. Nach vollständiger Abkühlung wurden 17 ml 25 %iger HCl zur Scheidung der Fettsäuren hinzugefügt. Hierauf wurde erneut gekühlt. Dieser Mischung wurden 50 ml Petroläther (Siedepunkt 40 - 60°C) zugesetzt, der Kolben mit einem Glasstöpsel verschlossen und eine Minute lang kräftig geschüttelt. Hierdurch kam es zu einer fast vollständigen Lösung der Fette und Fettsäuren in der Petrolätherschicht. Aus dieser Schicht wurden mit einer 25 ml Druckpipette, die durch die Öffnung eines Gummistopfens mit der Flüssigkeit in Verbindung stand (eine zweite Bohrung enthielt ein gebogenes Glasrohr, das zum Füllen der Pipette durch Einblasen diente), 25 ml abpipettiert und mit n/10 isobutylalkoholischer KOH titriert, wobei blaues Thymol (2 % in 50 %igem Alkohol) als Indikator diente. Der Fettgehalt des Kots errechnete sich nach folgender Formel. Vorausgesetzt war dabei ein mittleres Molekulargewicht von 284 für Fettsäuren.

$$\text{Fettsäuren/100 g Stuhl} = \frac{A \times 284 \times 1,04 \times 2 \times 100}{10\,000 \times Q} = 5,907 \times \frac{A}{Q}$$

A = Verbrauch der n/10 isobutylalkoholischen KOH in ml

Q = Menge des analysierten Kots

Der Faktor 1,04 war notwendig, da das Volumen der Petrolätherschicht sich beim Vermischen mit alkoholischer Salzsäure um 1 % ausdehnt und 3 % der Fettsäuren als Lösung in der sauren Alkoholschicht verbleiben.

VI. Erläuterungen zur statistischen Berechnung

Zur Berechnung des Mittelwertes der Einzelergebnisse wurde folgende Formel verwendet:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

x_i = Einzelergebnisse

n = Anzahl der Ergebnisse

Die Standardabweichung oder Streuung wurde nach folgender Formel errechnet:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Bei den relativen Werten wurde der Mittelwert der Kontrollgruppe gleich 100 gesetzt und die Streuung darauf bezogen. Der absolute Mittelwert der Versuchsgruppe wurde prozentual zu dem Wert der Kontrollgruppe in Beziehung gesetzt, ebenso die Standardabweichung.

Zur Errechnung der Signifikanz wurde die Sicherheitsgrenze für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ($P = 0,05$) festgesetzt. Die Signifikanz wurde mittels des t-Testes bestimmt:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_D} \quad \text{wobei}$$

$$s_D^2 = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \left[s_1^2 \cdot (n_1 - 1) + s_2^2 (n_2 - 1) \right]$$

$\bar{x}_1$ = Mittelwert der Kontrollgruppe

$\bar{x}_2$ = Mittelwert der Versuchsgruppe

n_1 = Anzahl der Ergebnisse der Kontrollgruppe

n_2 = Anzahl der Ergebnisse der Versuchsgruppe

s_1 = Streuung der Werte der Kontrollgruppe

s_2 = Streuung der Werte der Versuchsgruppe

War die Anzahl der Versuchsergebnisse in beiden Gruppen gleich, konnte die Formel vereinfacht benutzt werden:

$$t = \sqrt{\frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\frac{s_1^2 + s_2^2}{n}}}$$

E. VERSUCHSERGEBNISSE

Für die Beurteilung der Cyclamatverträglichkeit wurden folgende Kriterien in Betracht gezogen: Verhalten der Tiere, Konsistenz des Kots, Stickstoffgehalt in Kot und Urin, Fettausscheidung im Kot, Gewichtszunahme und Wasserverbrauch. Der Stickstoffgehalt des Futters wurde jeweils analytisch (Kjeldahl), der Fettgehalt theoretisch errechnet.

Versuch I

Im Versuch I erhielten die Tiere normale halbsynthetische Kost mit einem Fettgehalt von 7 % (s. Tabelle III).

Tab. III: Ergebnisse des 1. Versuchs

	o h n e	Cyclamat	m i t	Cyclamat
	abs.	rel.	abs.	rel.
N-Aufnahme	1562,4	100	1635,2	104,7
Kot-N	64,3 $\pm$ 14,5	100 $\pm$ 22,6	100,7 $\pm$ 15,4 ⁺	156,5 $\pm$ 23,8
Urin-N	508,4 $\pm$ 80,3	100 $\pm$ 15,8	500,7 $\pm$ 75,8	98,5 $\pm$ 14,9
Gesamt-N	572,7 $\pm$ 75,9	100 $\pm$ 13,2	601,4 $\pm$ 37,9	105,0 $\pm$ 6,6
N-Retention	989,7 $\pm$ 75,9	100 $\pm$ 7,7	1033,9 $\pm$ 37,9	104,5 $\pm$ 3,8
Fettaufnahme	3920,0	100	3920,0	100
Fettausscheidung	359,0 $\pm$ 18,0	100 $\pm$ 5,0	363,0 $\pm$ 36,0	101,1 $\pm$ 10,0
Fettretention	3561,0 $\pm$ 18,0	100 $\pm$ 0,5	3557,0 $\pm$ 36,0	99,9 $\pm$ 1,0
Gewichtszunahme	16,9 $\pm$ 3,9	100 $\pm$ 22,8	17,4 $\pm$ 3,2	103,0 $\pm$ 18,8
Wasserverbrauch	92,0 $\pm$ 16,9	100 $\pm$ 18,4	103,3 $\pm$ 16,8	112,3 $\pm$ 18,3

⁺) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1 \%$.

Die Angabe der absoluten Werte erfolgt in mg mit Ausnahme der Gewichtszunahme (g) und des Wasserverbrauchs (ml).

Während des Versuches verhielten sich die Tiere normal und zeigten keine Besonderheiten. Bei den Analysen erwies sich, daß bei den Cyclamattieren eine signifikante Erhöhung des Stickstoffgehaltes im Kot festzustellen war, im Urinstickstoff jedoch nur eine geringfügige Verminderung auftrat. Trotzdem war die Stickstoffretention bei den Cyclamattieren erhöht, da die Differenz in der Gesamt-Stickstoffausscheidung kleiner war als die Differenz im Stickstoffgehalt des Futters. Der höhere Stickstoffgehalt im Futter der Cyclamattiere beruht auf dem Cyclamat, das zu etwa 6 % Stickstoff enthält.

Es zeigten sich bei der Cyclamatgruppe bereits am 2. Tag der Vorperiode (7 % Fett in der halbsynthetischen Kost) Durchfälle von breiiger bis wässriger Konsistenz, was etwa einem Wassergehalt von 85 - 90 % entspricht. Die Färbung des Kotes war normal (dunkelbraun) bis leicht grünlich. Schleim-, Eiter- oder Blutbeimengungen waren makroskopisch nicht zu erkennen. Die Kotsubstanz schien in sich homogen zu sein. Die Konsistenz des Kotes änderte sich während des ersten Versuches nicht. Das Verhalten der Tiere litt nicht unter den Durchfällen.

Da die Tiere noch sehr jung und der Kotanfall entsprechend gering war, mußte in diesem Versuch der Kot zweier Tiere gemeinsam auf Stickstoff und Fett untersucht werden. Insgesamt wurden 33,8 (Kontrollgruppe) und 36,8 % (Versuchsgruppe) des aufgenommenen Stickstoffs wieder ausgeschieden. Dabei war zu berücksichtigen, daß wahrscheinlich den größten Anteil davon endogener Stickstoff darstellte, der z.T. auch von Bakterien stammte.

Die Fettausscheidung im Kot lag bei 9,2 bzw. 9,3 %, bezogen auf den Fettgehalt im Futter. Es zeigte sich trotz der Diarrhoe bei

den Cyclamatttieren im Vergleich zu den Kontrolltieren keine wesentliche Differenz im Fettgehalt des Kotes.

Die Gewichtszunahmen wiesen ebenfalls keine großen Unterschiede auf. Zwar war die Zunahme während der Bilanz bei den Cyclamatttieren um 0,5 g im Mittel größer, dennoch war es zweifelhaft, ob das bessere Wachstum in Beziehung zur erhöhten Stickstoffretention stand.

Der Verbrauch an Trinkwasser war bei den Cyclamatttieren um 12,3 % gesteigert.

Versuch II

Im 2. Versuch war im Gegensatz zum ersten der Fettgehalt im Futter verdoppelt worden (14 %). Am auffälligsten war die Veränderung der Kotkonsistenz bei den Cyclamatttieren. Eine Diarrhoe war nicht mehr nachweisbar. Statt dessen war der Kot dieser Tiere geformt, wenn auch von weicher, pastenartiger Konsistenz und gelblichem Aussehen. Dennoch gab es geringe Unterschiede zu den Kontrolltieren, deren Kot etwas dunkler gefärbt und trockener war. In beiden Gruppen lieferten die Tiere größere Kotmengen als im ersten Versuch, so daß die Exkremente jedes Fieres analysiert werden konnten. Eine Änderung im Verhalten der Cyclamatttiere konnte nicht festgestellt werden (s. Tabelle IV).

In den Stickstoffanalysen trat im Kot wiederum eine signifikante Erhöhung auf, die jedoch nicht so ausgeprägt war wie im 1. Versuch. Dabei fiel der Wert eines Tieres in der Kontrollgruppe erheblich aus dem Rahmen. Er blieb unberücksichtigt, ebenso wie der Wert des gleichen Tieres bei der Urinanalyse.

Tab. IV: .Ergebnisse des 2. Versuchs

	o h n e	Cyclamat	m i t	Cyclamat
	abs.	rel.	abs.	rel.
N-Aufnahme	1953,0	100	2044,0	104,7
Kot-N	106,5 $\pm$ 17,1	100 $\pm$ 16,0	132,8 $\pm$ 17,9 ⁺	124,7 $\pm$ 16,8
Urin-N	880,8 $\pm$ 136,0	100 $\pm$ 15,4	900,8 $\pm$ 88,2	102,3 $\pm$ 10,1
Gesamt-N	989,4 $\pm$ 124,0	100 $\pm$ 12,5	1021,8 $\pm$ 93,0	103,3 $\pm$ 9,4
N-Retention	963,6 $\pm$ 124,0	100 $\pm$ 12,9	1022,2 $\pm$ 93,0	106,1 $\pm$ 9,7
Fettaufnahme	9800,0	100	9800,0	100
Fettausscheidung	1015,0 $\pm$ 217,0	100 $\pm$ 21,4	885,0 $\pm$ 172,0	87,2 $\pm$ 17,0
Fettretention	8785,0 $\pm$ 217,0	100 $\pm$ 2,5	8915,0 $\pm$ 172,0	101,5 $\pm$ 2,0
Gewichtszunahme	28,2 $\pm$ 2,4	100 $\pm$ 8,4	28,4 $\pm$ 3,5	100,7 $\pm$ 12,5
Wasserverbrauch	92,6 $\pm$ 12,1	100 $\pm$ 13,1	115,6 $\pm$ 20,3 ⁺	124,8 $\pm$ 21,9

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1 \%$

Die Angabe der absoluten Werte erfolgt in mg mit Ausnahme der Gewichtszunahme (g) und des Wasserverbrauchs (ml).

Trotz ebenfalls erhöhter Stickstoffausscheidung im Urin, die nicht gesichert werden konnte, war die Gesamtstickstoffausscheidung bei den Cyclamattieren nur so gering erhöht, daß unter Bezug auf die Stickstoffaufnahme eine positive Stickstoffretention resultierte.

Die Fettausscheidung im Kot war absolut gesehen recht hoch (etwa 1 g/Bilanz). Relativ fanden sich 9,0 (Cyclamatgruppe) und 10,4 % (Kontrollgruppe) des Nahrungsfettes im Kot wieder. Die Werte liegen also nur unwesentlich höher als im ersten Ver-

such. Das salbenartige Aussehen des Kots war dadurch zu erklären, daß die Kotmenge nicht in dem Maße angestiegen war wie der absolute Fettgehalt im Kot. Die Fettkonzentration war infolge dessen erhöht.

Die Gewichtszunahmen beider Gruppen erfolgten in etwa gleich starkem Maße. Gegenüber dem ersten Versuch ergab sich eine Steigerung um etwa 64 %, was nicht zuletzt auf die stark erhöhte Fettretention zurückgeführt werden konnte.

Der Wasserverbrauch der Cyclamatgruppe war wiederum erhöht, diesmal signifikant um etwa 24 %. Ein Tier der Kontrollgruppe blieb in diesem und auch allen folgenden Versuchen infolge extrem hohen Wasserverbrauchs unberücksichtigt. Dies lag nicht am Trinkwassergefäß, wie durch Auswechseln sichergestellt werden konnte, sondern an dem Verhalten des Tieres, das ständig mit den Vorderpfoten an der Röhrenöffnung entlangwischte.

Versuch III

Der Fettgehalt des Futters wurde in diesem Versuch auf 0,5 % reduziert (s. Tabelle V).

Bei den Cyclamattieren trat schon nach einem Tag ein erheblicher Durchfall auf, der das Verhalten gegenüber den Kontrolltieren aber nicht sichtbar beeinträchtigte. Allerdings wirkte sowohl die Cyclamatgruppe wie auch die Kontrollgruppe etwas apathisch und antriebsgestört. Der Kot war wie im 1. Versuch von breiiger, wässriger Konsistenz. Beimengungen wie Schleim, Eiter oder Blut fehlten. Die produzierten Kotmengen waren so gering, daß wiederum der Kot zweier Tiere zusammen untersucht werden mußte.

Tab. V: Ergebnisse des 3. Versuchs

	o h n e	Cyclamat	m i t	Cyclamat
	abs.	rel.	abs.	rel.
N-Aufnahme	1946,0	100	2023,0	104,0
Kot-N	139,7 $\pm$ 19,7	100 $\pm$ 14,0	127,4 $\pm$ 20,7	91,2 $\pm$ 14,8
Urin-N	1257,2 $\pm$ 57,5	100 $\pm$ 4,6	1253,1 $\pm$ 75,4	99,7 $\pm$ 6,0
Gesamt-N	1390,8 $\pm$ 32,8	100 $\pm$ 2,4	1380,5 $\pm$ 53,3	99,3 $\pm$ 3,8
N-Retention	555,2 $\pm$ 32,8	100 $\pm$ 5,9	642,5 $\pm$ 53,3 ⁺⁺⁾	115,7 $\pm$ 9,6
Fettaufnahme	350,0	100	350,0	100
Fettaus- scheidung	124,0 $\pm$ 18,0	100 $\pm$ 14,5	114,0 $\pm$ 13,0	91,9 $\pm$ 10,5
Fettretention	226,0 $\pm$ 18,0	100 $\pm$ 8,0	236,0 $\pm$ 13,0	104,4 $\pm$ 5,8
Gewichtszu- nahme	6,9 $\pm$ 2,4	100 $\pm$ 35,2	8,9 $\pm$ 2,9	129,0 $\pm$ 41,7
Wasserver- brauch	109,0 $\pm$ 29,9	100 $\pm$ 27,4	154,3 $\pm$ 38,9 ^{+))}	141,6 $\pm$ 35,7

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1 \%$.

++) = $P < 0,1 \%$.

Die Angabe der absoluten Werte erfolgt in mg mit Ausnahme der Gewichtszunahme (g) und des Wasserverbrauchs (ml).

Der Kotstickstoff der Cyclamattiere war in diesem Versuch geringfügig vermindert, ebenso der Urinstickstoff. Da somit auch die Gesamtstickstoffausscheidung erniedrigt war, ergab sich eine stark positive Stickstoffretention.

Die Analysenwerte für den Kot- und Urinstickstoff von zwei Tieren der Kontrollgruppe wurden für die Berechnung des Mittelwertes nicht hinzugezogen. Wie auch bei den folgenden Versuchen zeigte sich, daß ein oder zwei Tiere jeweils hohe Stickstoff-

werte im Kot und niedrige im Urin aufwiesen. Es ist möglich, daß bei diesen Tieren die Anlage zur Trennung von Kot und Urin nicht einwandfrei funktionierte. Der Gesamtstickstoff erreichte bei diesen Tieren jedoch nahezu normale Werte, so daß sie hierbei wieder Berücksichtigung fanden.

Bei einer aufgenommenen Fettmenge von 350 mg im Futter wurden etwa 34 % wieder ausgeschieden. Die Unterschiede im Fettgehalt des Kots waren unwesentlich. Auffällig war die relativ große Ausscheidungsquote bei einer minimalen Fettzufuhr. Es war wohl ein Zeichen dafür, daß ein großer Anteil des Kotfettes endogenen Ursprungs war.

Die Gewichtszunahme sank bei beiden Gruppen rapide. Trotz der Diarrhoe war die Gewichtszunahme bei den Cyclamattieren im Mittel um 2,0 g größer. Infolge der insgesamt geringen Gewichtszunahmen muß dem Fettgehalt der Kost ein großer Einfluß auf das Wachstum zugebilligt werden, zumal die Kalorienzufuhr in diesem Versuch noch höher lag als z.B. im 1. Versuch. Die Wachstumsverringerung muß langsam erfolgt sein, denn in der Vorperiode dieses Versuches war bei den Tieren noch eine Gewichtszunahme von etwa 17 g bei einer Futterzufuhr von 80 g/Tier anstatt 70 g während der Bilanz zu verzeichnen. Ein Mangel an fettlöslichen Vitaminen, vielleicht infolge fehlender Transportmöglichkeiten durch Fette, konnte ausgeschlossen werden, da dieser sich noch nicht innerhalb von 14 Tagen manifestieren würde.

Der Wasserverbrauch der Cyclamattiere stieg gegenüber den Kontrolltieren signifikant um 41,6 % an.

Versuch IV

Im 4. Versuch wurde bei normaler Fettzufuhr (7 %) anstelle einer entsprechenden Zuckermenge 5 % Rohfaser verabreicht (s. Tabelle VI).

Tab. VI: Ergebnisse des 4. Versuchs

	o h n e Cyclamat		m i t Cyclamat	
	abs.	rel.	abs.	rel.
N-Aufnahme	1953,0	100	2037,0	104,3
Kot-N	148,5 $\pm$ 41,4	100 $\pm$ 27,9	207,3 $\pm$ 42,8 ⁺⁾	139,6 $\pm$ 24,7
Urin-N	1380,7 $\pm$ 66,6	100 $\pm$ 4,8	1328,1 $\pm$ 94,0	96,2 $\pm$ 6,8
Gesamt-N	1522,9 $\pm$ 58,1	100 $\pm$ 3,8	1535,4 $\pm$ 108,4	100,8 $\pm$ 7,1
N-Retention	430,1 $\pm$ 58,1	100 $\pm$ 13,5	501,6 $\pm$ 108,4	116,7 $\pm$ 25,2
Fettaufnahme	4900,0	100	4900,0	100
Fettausscheidung	619,0 $\pm$ 115,0	100 $\pm$ 18,6	628,0 $\pm$ 111,0	101,5 $\pm$ 17,9
Fettretention	4281,0 $\pm$ 115,0	100 $\pm$ 2,7	4272,0 $\pm$ 111,0	99,8 $\pm$ 2,6
Gewichtszunahme	9,4 $\pm$ 2,5	100 $\pm$ 26,3	8,7 $\pm$ 2,4	92,5 $\pm$ 25,0
Wasserverbrauch	131,5 $\pm$ 34,4	100 $\pm$ 26,2	191,8 $\pm$ 63,9 ⁺⁾	145,9 $\pm$ 48,6

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 2 \%$.

++) = $P < 1 \%$.

Die Angabe der absoluten Werte erfolgt in mg mit Ausnahme der Gewichtszunahme (g) und des Wasserverbrauchs (ml).

Bei dieser Kost gingen die Durchfälle der Cyclamattiere schnell zurück. Unterschiede zu der kontrollgruppe waren kaum vorhanden. Alle Tiere setzten recht große Kotballen ab. Die Kotmenge war um

das zwei- bis dreifache vermehrt, so daß bei den Fettanalysen sogar Parallelbestimmungen durchgeführt werden konnten.

Die Stickstoffwerte im Kot zeigten bei den Cyclamattieren eine signifikante Erhöhung. Allerdings war der Urinstickstoff vermindert, so daß der Gesamtstickstoff nur gering gesteigert war. Die Stickstoffretention war deshalb erneut positiv. Bei der Berechnung der Stickstoffwerte in Kot und Urin fand ein Tier der Kontrollgruppe keine Berücksichtigung.

Wesentliche Differenzen bei der Fettausscheidung waren nicht-erkennbar. Bei beiden Gruppen war die Ausscheidung etwas erhöht (ca. 12,7 %). Verwunderlich erschien die geringe Gewichtszunahme trotz normaler Fettzufuhr. Sie war bei der Cyclamatgruppe nicht größer als im 3. fettarmen Versuch und bei der Kontrollgruppe nur gering gesteigert. Ob der geringe Zuwachs evtl. auf die fettarme Kost des vorangegangenen Versuchs zurückzuführen ist, muß noch diskutiert werden. Dieser Versuch stellte den einzigen dar, in dem das Wachstum der Cyclamattiere gegenüber der Kontrollgruppe während der Bilanz vermindert war. Die Differenz war nicht signifikant, wie auch die Gewichtsunterschiede in allen anderen Versuchen.

Der Trinkwasserverbrauch war bei den Cyclamattieren wesentlich erhöht (45,9 %).

Versuch V

Während des 5. Bilanzversuches betrug der Rohfasergehalt in der Kost 10 % (s. Tabelle VII).

Tab. VII: Ergebnisse des 5. Versuchs

	o h n e	Cyclamat	m i t	Cyclamat
	abs.	rel.	abs.	rel.
N-Aufnahme	2557,1	100	2648,1	103,6
Kot-N	234,7 $\pm$ 50,3	100 $\pm$ 21,4	348,4 $\pm$ 49,8 ⁺⁺⁾	148,4 $\pm$ 20,0
Urin-N	1666,4 $\pm$ 137,3	100 $\pm$ 8,2	1583,4 $\pm$ 64,8	95,0 $\pm$ 3,9
Gesamt-N	1901,1 $\pm$ 123,2	100 $\pm$ 6,5	1922,7 $\pm$ 66,4	101,1 $\pm$ 3,5
N-Retention	656,0 $\pm$ 123,2	100 $\pm$ 18,8	725,4 $\pm$ 66,4	112,1 $\pm$ 10,3
Fettaufnahme	6370,0	100	6370,0	100
Fettaus- scheidung	1116,0 $\pm$ 144,0	100 $\pm$ 12,9	1102,0 $\pm$ 93,0	98,7 $\pm$ 8,3
Fettretention	5254,0 $\pm$ 144,0	100 $\pm$ 2,7	5268,0 $\pm$ 93,0	100,3 $\pm$ 1,8
Gewichtszu- nahme	17,3 $\pm$ 3,3	100 $\pm$ 19,1	18,0 $\pm$ 2,0	104,1 $\pm$ 11,3
Wasserver- brauch	172,9 $\pm$ 49,7	100 $\pm$ 28,7	235,8 $\pm$ 52,3 ^{+))}	136,4 $\pm$ 30,3

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1$ %.

++) = $P < 0,1$ %.

Die Angabe der absoluten Werte erfolgt in mg mit Ausnahme der Gewichtszunahme (g) und des Wasserverbrauchs (ml).

Da die Futteraufnahme auf 91 g/Bilanz und Tier gesteigert wurde, erhöhte sich der kalorische Wert der Kost beträchtlich, obwohl der Zuckergehalt entsprechend der Rohfasergabe vermindert war. Die Konsistenz und Färbung des Kots ähnelte der des vorangegangenen Versuches, nur daß die Menge auf das 5 bis 6fache anstieg. Unterschiede zwischen beiden Gruppen bezüglich der Kotbeschaffenheit waren nicht zu sehen.

Die Stickstoffretention bei den Cyclamattieren war auch in die-

sem Versuch wieder positiv, obwohl die Stickstoffausscheidung im Kot um nahezu 50 % anstieg. Im Urin fand sich ein stark - aber nicht signifikant - verminderter Stickstoffgehalt, der die Erhöhung im Kot praktisch kompensierte. In diesem Versuch mußten die Analysenwerte eines Tieres der Cyclamatgruppe außer Betracht gelassen werden.

Bei der Fettausscheidung ergaben sich keine Differenzen zwischen den beiden Gruppen. Die Werte der Fettanalyse lagen jedoch recht hoch. Etwa 17,4 %, bezogen auf das Nahrungsfett, wurden wieder ausgeschieden.

Die Gewichtszunahme in beiden Gruppen normalisierte sich. Sie lag bei 17 - 18 g/Bilanz. Wesentliche Unterschiede im Wachstum traten nicht auf.

Die Höhe des Wasserverbrauchs verminderte sich bei den Cyclamat-tieren relativ gesehen ein wenig, dennoch war der vermehrte Bedarf noch signifikant zu sichern.

Versuch VI

Die Tiere erhielten normale Kost ohne Rohfaser bei 7 % Fettgehalt, womit praktisch die gleichen Versuchsbedingungen wie beim 1. Versuch galten (s. Tabelle VIII).

Einen Tag nach Verabreichung des Futters kam es bei den Cyclamat-tieren zu Durchfällen, die sich kaum von denen im 1. und 3. Versuch unterschieden. Das Verhalten der Tiere war dadurch nicht beeinträchtigt.

Tab. VIII: Ergebnisse des 6. Versuchs

	o h n e Cyclamat		m i t Cyclamat	
	abs.	rel.	abs.	rel.
N-Aufnahme	2593,5	100	2693,6	103,9
Kot-N	265,6 $\pm$ 79,3	100 $\pm$ 29,9	252,7 $\pm$ 62,0	95,1 $\pm$ 23,4
Urin-N	1605,3 $\pm$ 137,2	100 $\pm$ 8,6	1529,3 $\pm$ 96,9	95,3 $\pm$ 6,0
Gesamt-N	1870,9 $\pm$ 84,2	100 $\pm$ 4,5	1782,0 $\pm$ 79,3	95,2 $\pm$ 4,2
N-Retention	722,6 $\pm$ 84,2	100 $\pm$ 11,7	911,6 $\pm$ 79,3 ⁺⁺⁾	126,2 $\pm$ 11,0
Fettaufnahme	6370,0	100	6370,0	100
Fettaus- scheidung	1027,0 $\pm$ 103,0	100 $\pm$ 10,0	699,0 $\pm$ 129,0 ⁺⁺⁾	68,1 $\pm$ 12,6
Fettretention	5343,0 $\pm$ 103,0	100 $\pm$ 1,9	5671,0 $\pm$ 129,0 ⁺⁺⁾	106,1 $\pm$ 2,4
Gewichtszu- nahme	14,6 $\pm$ 2,6	100 $\pm$ 17,7	14,8 $\pm$ 2,1	101,4 $\pm$ 14,6
Wasserver- brauch	128,2 $\pm$ 27,7	100 $\pm$ 21,6	167,7 $\pm$ 35,5 ⁺⁺⁾	130,8 $\pm$ 27,7

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1 \%$.

++) = $P < 0,1 \%$.

Die Angabe der absoluten Werte erfolgt in mg mit Ausnahme der Gewichtszunahme (g) und des Wasserverbrauchs (ml).

Die Stickstoffanalyse im Kot ergab nur eine geringe Verminderung bei den Cyclamattieren. Dagegen war die Verminderung im Urinstickstoff um so größer, jedoch nicht signifikant. Die positive Stickstoffretention war deshalb recht erheblich und ebenfalls zu sichern wie im 3. Versuch.

Die Fettausscheidung war zum ersten Mal in beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. Während bei den Cyclamattieren in den Analysen 11,0 % des zugeführten Fettes wiedergefunden wurden,

waren es bei der Kontrollgruppe 16,1 %.

Die Gewichtszunahme war in beiden Gruppen ausgeglichen. Sie war jedoch insgesamt nicht so groß wie im 5. Versuch, obwohl der kalorische Wert des Futters erhöht war.

Der Wasserverbrauch der Cyclamattiere war zwar immer noch signifikant erhöht, dennoch nicht mehr in dem Maße wie in den vorangegangenen Versuchen (30,8 %).

Sektion der Tiere

Alle Tiere beider Gruppen wurden nach Beendigung des 6. Versuches getötet. Die Tötung erfolgte nicht wie üblich durch Dekapitation, da die Schilddrüse der Tiere erhalten bleiben sollte.

Die Tiere wurden mit Äther betäubt, der Thorax eröffnet und das pulsierende Herz angeschnitten, um möglichst viel Blut abfließen zu lassen. Dadurch wurde eine maximale Blutleere der Organe erzielt. Sodann wurden Caecum, Leber und Schilddrüse freipräpariert und gewogen. Das Caecum wurde vor der Wägung gespült. Folgende Ergebnisse wurden gewonnen (s. Tabelle IX).

Tab. IX: Organgewichte der Versuchstiere

	ohne Cyclamat in % d.Kör- pergewichts	rel.	mit Cyclamat in % d.Kör- pergewichts	rel.
Leber	2,85±0,39	100±13,8	3,04±0,21	106,5± 7,5
Caecum (leer)	0,29±0,04	100±13,3	0,33±0,03	113,6±10,5
Schilddrüse	0,21±0,04	100±16,8	0,19±0,02	90,2± 8,9

Für die Berechnung des Mittelwertes und der Streuung wurden die Werte aller Tiere verwendet. Interessant ist, daß bei 2 %iger Cyclamatgabe nur eine geringe, nicht signifikante Vergrößerung des Caecums auftrat, während bei VALACH (50) gleiche Cyclamatkonzentrationen und auch höhere Dosen zu einer extremen, allerdings reversiblen Vergrößerung des Blinddarms führten. Dennoch scheint diese pathologisch-anatomische Veränderung außerordentlich charakteristisch für die Wirkung peroral zugeführten Cyclamats zu sein.

Sicher ist, daß in unserem Versuch keine Steigerung des Schilddrüisengewichtes erfolgte, wie sie NEES u. DERSE (36, 37) beschrieben haben. Dieser Befund zeigt, daß zumindest im Bereich der von uns geprüften Cyclamatkonzentration eine signifikante Vergrößerung nicht eintritt.

Auch die Lebervergrößerung liegt innerhalb der Streuungsbreite der Versuchsergebnisse und deutet in keiner Weise auf eine pathologisch-anatomische Veränderung dieses Organs hin.

F. DISKUSSION DER VERSUCHSERGEBNISSE

Wenn man davon ausgeht, daß Cyclamat sowohl in resorbierter als auch nicht resorbierter Form innerhalb von Stunden fast vollständig aus dem Körper eliminiert wird (1, 20, 25, 26, 34, 44, 49), müßte der Cyclamatstickstoff bei einer Stickstoffbilanz fast gänzlich wieder in der Gesamtstickstoffausscheidung erscheinen. Eigenartigerweise ist dies in allen Versuchen nicht der Fall. Zwar ist in den Versuchen I (7 % Fett), II (14 % Fett), IV (5 % Rohfaser) und V (10 % Rohfaser) die Gesamtstickstoffausscheidung der Cyclamattiere gegenüber den Kontrolltieren erhöht, jedoch nicht in dem Maße, wie es nach der 2 %igen Cyclamatgabe zu erwarten gewesen wäre. In den Versuchen III und VI waren die Stickstoffausscheidungen der Cyclamattiere sogar vermindert. Daraus ergab sich, daß die Stickstoffretention der Cyclamattiere in allen Versuchen positiv war. Signifikante Unterschiede traten jedoch lediglich in den Versuchen III und VI auf, in denen fettarme (0,5 %) und normale Kost (7 % Fett, 0 % Rohfaser) verabreicht wurde (s. Tabelle X).

Diese positive Stickstoffretention bei den Cyclamattieren ist nicht leicht zu erklären, da nicht bekannt ist, ob der vermutlich vermehrt retinierte Stickstoff aus dem Cyclamat oder aber von anderen stickstoffhaltigen Nahrungsbestandteilen stammt. Zu diesem Zweck hätte eine Cyclamatbestimmung in den Ausscheidungen erfolgen müssen, die aber aus technischen Gründen nicht durchgeführt werden konnte.

Eine Erklärung wäre, daß nicht alles Cyclamat ausgeschieden wird, sondern ein Teil verstoffwechselt oder aber in irgendeiner Weise im Körper gespeichert wird. Es ist bekannt, daß resorbiertes Cyclamat im Organismus in sehr unterschiedlichen Mengen zu dem pharmakodynamisch wirksamen Cyclohexylamin umgewandelt wird.

Tab. X: Stickstoffretention in mg bzw. %

	o h n e Cyclamat		m i t Cyclamat	
	abs.	rel.	abs.	rel.
Vers. I 7 % Fett	989,7 $\pm$ 75,9	100 $\pm$ 7,7	1033,9 $\pm$ 37,9	104,5 $\pm$ 3,8
Vers. II 14 % Fett	963,6 $\pm$ 124,0	100 $\pm$ 12,9	1022,2 $\pm$ 93,0	106,1 $\pm$ 9,7
Vers. III 0,5 % Fett	555,2 $\pm$ 32,8	100 $\pm$ 5,9	642,5 $\pm$ 53,3 ^{+) 115,7$\pm$ 9,6}	
Vers. IV 5 % Rohfaser	430,1 $\pm$ 58,1	100 $\pm$ 13,5	501,6 $\pm$ 108,4	116,7 $\pm$ 25,2
Vers. V 10 % Rohfaser	656,0 $\pm$ 123,2	100 $\pm$ 18,8	725,4 $\pm$ 66,4	112,1 $\pm$ 10,3
Vers. VI 0 % Rohfaser	722,6 $\pm$ 84,2	100 $\pm$ 11,7	911,6 $\pm$ 79,3 ^{+) 126,2$\pm$ 11,0}	

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,1$ %.

Nach KOJIMA u. ICHIBAGASE (26) entsteht durch weitere Metabolisierung Cyclohexanol und Cyclohexanon. Offenbar gehen diese Reaktionen über Fermentsysteme vor sich, die erst im Laufe einer längeren Cyclamatzufuhr gebildet werden. Daher ist es möglich, daß Tiere bei Versuchsbeginn sehr stark mit Cyclohexylaminbildung reagieren, später aber durch eine schnellere Entgiftung zu Cyclohexanol und Cyclohexanon die Cyclohexylaminausscheidung vermindert wird. Entsprechend ändern sich auch die zentralnervösen Erregungserscheinungen, für die Cyclohexylamin verantwortlich ist.

Eine 2 %ige Cyclamatzufuhr liegt an der unteren Grenze, an der die ersten Wirkungen des Cyclohexylamins auftreten. Daher ist es nicht verwunderlich, daß außer den Cyclamatdiarrhoen zentral-

nervöse Erregungserscheinungen der Versuchstiere nicht zu beobachten waren. Trotzdem ist damit zu rechnen, daß die resorbierten Cyclamatmengen auf die oben beschriebene Weise metabolisiert werden. Da dies jedoch unterschiedlich schnell verlaufen kann, ist daran zu denken, daß bei einer verzögerten Cyclamat-Stickstoffausscheidung vorübergehend eine scheinbare Erhöhung der Stickstoffretention resultieren kann.

Eine andere Möglichkeit der Erklärung setzt voraus, daß die Cyclamatausscheidung fast vollständig ist. Es würde bedeuten, daß der vermehrt retinierte Stickstoff vornehmlich aus dem zugeführten Eiweiß stammt. Normalerweise müßte sich dies in einem stärkeren Wachstum äußern. Die Wachstumsdifferenz war jedoch nicht signifikant, so daß diese Erklärungsweise nicht befriedigt.

Eine einfache Deutung wäre in dem starken Durchfall der Cyclamattiere in den Versuchen III (0,5 % Fett) und VI (7 % Fett, 0 % Rohfaser) zu suchen. Da es außerdem infolge der Cyclamateinwirkung zu einer nachgewiesenen Steigerung der Darmmotorik kommt (20), die mit einer Bildung großer Gasmengen einhergeht (10), könnte auf diese Weise ein gewisser Anteil des Kotstickstoffes der Analyse verlustig gehen. Denn nach HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (19) soll das Darmgas zu 59 % aus Stickstoff bestehen.

Dieser Beweisführung steht jedoch entgegen, daß im Versuch I, in dem die gleiche Kost wie im Versuch VI (Normalkost) verabreicht wurde und auch entsprechend starker Durchfall auftrat, eine signifikante Erhöhung der Stickstoffretention bei den Cyclamattieren nicht nachzuweisen war. Es muß aber hierbei berücksichtigt werden, daß die Tiere im Versuch I sehr jung waren und der Kotanfall auch gegenüber dem Versuch III (0,5 % Fett) so gering war, daß der eingetretene Stickstoffverlust sich nicht

signifikant äußerte. Es ist daher wenig wahrscheinlich, daß bei extrem fettarmer und normaler Kost im Gegensatz zu fett- und rohfaserreicher Kost Cyclamat vielleicht vermehrt resorbiert und im Körper in metabolisierter Form gespeichert wird, oder daß es sogar einen Einfluß auf den Proteinstoffwechsel ausübt. Vielmehr wird der in der Bilanz aufgetretene Stickstoffverlust, zumindest zum großen Teil, auf dem oben gezeigten Wege erfolgt sein. Die Stickstoffretention der Cyclamattiere wäre in diesem Falle nur scheinbar erhöht. Dies würde auch erklären, warum ein signifikant verstärktes Wachstum gegenüber den Kontrolltieren nicht auftrat.

Tab. XI: a) Kotstickstoff in mg bzw. %
b) Urinstickstoff in mg bzw. %

		o h n e Cyclamat		m i t Cyclamat	
		abs.	rel.	abs.	rel.
Vers. I 7 % Fett	a)	64,3 $\pm$ 14,5	100 $\pm$ 22,6	100,7 $\pm$ 15,4 ⁺⁾	156,5 $\pm$ 23,8
	b)	508,4 $\pm$ 80,3	100 $\pm$ 15,8	500,7 $\pm$ 75,8	98,5 $\pm$ 14,9
Vers. II 14 % Fett	a)	106,5 $\pm$ 17,1	100 $\pm$ 16,0	132,8 $\pm$ 17,9 ⁺⁾	124,7 $\pm$ 16,8
	b)	880,8 $\pm$ 136,0	100 $\pm$ 15,4	900,8 $\pm$ 88,2	102,3 $\pm$ 10,1
Vers. III 0,5 % Fett	a)	139,7 $\pm$ 19,7	100 $\pm$ 14,0	127,4 $\pm$ 20,7	91,2 $\pm$ 14,8
	b)	1257,2 $\pm$ 57,5	100 $\pm$ 4,6	1253,1 $\pm$ 75,4	99,7 $\pm$ 6,0
Vers. IV 5 % Roh- faser	a)	148,5 $\pm$ 41,4	100 $\pm$ 27,9	207,3 $\pm$ 42,8 ⁺⁾	139,6 $\pm$ 24,7
	b)	1380,7 $\pm$ 66,6	100 $\pm$ 4,8	1328,1 $\pm$ 94,0	96,2 $\pm$ 6,8
Vers. V 10 % Roh- faser	a)	234,7 $\pm$ 50,3	100 $\pm$ 21,4	348,4 $\pm$ 46,9 ⁺⁺⁾	148,4 $\pm$ 20,0
	b)	1666,4 $\pm$ 137,3	100 $\pm$ 8,2	1583,4 $\pm$ 64,8	95,0 $\pm$ 3,9
Vers. VI 0 % Roh- faser	a)	265,6 $\pm$ 79,3	100 $\pm$ 29,9	252,7 $\pm$ 62,0	95,1 $\pm$ 23,4
	b)	1605,3 $\pm$ 137,2	100 $\pm$ 8,6	1529,3 $\pm$ 96,9	95,3 $\pm$ 6,0

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1 \%$.

++) = $P < 0,1 \%$.

Wenn man die Stickstoffausscheidung im Kot gesondert betrachtet (s. Tabelle XI), ergibt sich, daß bei den Cyclamattieren in den Versuchen I (7 % Fett), II (14 % Fett), IV (5 % Rohfaser) und V (10 % Rohfaser) der Stickstoffgehalt im Kot signifikant erhöht ist. Dies ist nicht weiter verwunderlich, da Cyclamat zu 60 - 70 % in nicht resorbierter Form mit dem Kot wieder ausgeschieden wird. Eine Signifikanz wäre also zu fordern. In den Versuchen III (0,5 % Fett) und VI (7 % Fett, 0 % Rohfaser) ist jedoch eine signifikante Erhöhung des Kotstickstoffs nicht vorhanden, ja der Stickstoffgehalt des Kots ist sogar gegenüber den Kontrolltieren vermindert. Diese Befunde rechtfertigen die Annahme, daß ein Teil des Kotstickstoffs infolge des Durchfalls und der vermehrten Gasbildung der Analyse nicht mehr zugänglich war.

Bei der Stickstoffausscheidung im Urin war in allen 6 Versuchen keine signifikante Veränderung festzustellen (s. Tabelle XI). Eine Erhöhung des Stickstoffgehaltes im Urin der Cyclamattiere, die eventuell durch die Ausscheidung des resorbierten Cyclamats oder seiner Metaboliten zu erwarten gewesen wäre, trat nicht ein. Sie wäre auch sicher infolge des geringen Anteils des Cyclamatstickstoffs am Gesamtstickstoffgehalt des Urins nicht signifikant geworden und innerhalb der Streubreite geblieben.

Auffallend, wenn auch nicht signifikant, ist die Verminderung des Urinstickstoffs bei den Cyclamattieren in den Versuchen IV - VI. Sie ist in Versuch V (10 % Rohfaser) ausgeprägter als in Versuch IV (5 % Rohfaser). Diesen Ergebnissen geht eine Steigerung des Kotstickstoffs der Cyclamattiere gegenüber den Kontrolltieren in diesen beiden Versuchen parallel. Man kann daher vermuten, daß mit steigendem Rohfasergehalt in der Kost sich der Stickstoffgehalt des Kotes erhöht, während der des Urins absinkt. Die Ursache könnte in einer verminderten Resorption begründet sein. Da balastreiche Nahrung die Peristaltik des Darms

verstärkt und damit die Darmpassage für die aufgenommenen Substanzen und somit auch für das Cyclamat beschleunigen würde (17), könnte die verminderte Resorption des Cyclamats hinreichend erklärt werden.

Wenn man die Ergebnisse der Stickstoffbilanz zusammenfaßt, so ist zu sagen, daß ein Einfluß einer 2 %igen Cyclamatgabe auf die Stickstoffbilanz oder gar den Proteinstoffwechsel bei unterschiedlichem Fett- und Rohfasergehalt in der Kost nicht festzustellen ist. Eine erhöhte Stickstoffretention der Cyclamattiere liegt nicht vor. Sie wird lediglich durch einen Stickstoffverlust infolge des Durchfalls und der vermehrten Darmgasbildung vorgetäuscht. Die Ergebnisse stehen daher im Einklang mit der Arbeit von SCHÖNBERGER (44), der keinen Einfluß des Cyclamats auf den Stoffwechsel bzw. die Stickstoffbilanz nachweisen konnte. Weiterhin ist es möglich, daß mit zunehmendem Rohfasergehalt in der Kost die Resorption von Cyclamat verringert wird.

Es war ebenfalls Aufgabe dieser Arbeit, eine Fettbilanz aufzustellen (s. Tabelle XII).

Die Fettausscheidung, die im Kot bestimmt wurde, wies bis auf den letzten Versuch keine signifikanten Differenzen zwischen Cyclamat- und Kontrolltieren auf. Die starke Differenz in Versuch VI muß auf einem technischen Fehler beruhen. Auf jeden Fall ist eine physiologische Deutung dieses Befundes nicht ersichtlich.

Interessant ist noch die relativ hohe Fettausscheidung im Versuch III (0,5 % Fett). Das Fettangebot war hierbei wesentlich geringer als die Fettausscheidung in allen anderen Versuchen, und dennoch war die Ausscheidung in diesem Versuch relativ am höchsten. Dies beweist, daß zumindest ein großer Anteil des ausgeschiedenen Fettes endogener Herkunft sein muß. Nach

FLASCENTRÄGER u. LEHNERTZ (11) wird Nahrungsfett nur bei reichlicher Fettaufnahme im Kot gefunden, während sich bei Normalkost das Kotfett zu 40 % aus Bakterienfett und zu 60 % aus in den Dickdarm sezerniertem Fett zusammensetzt.

Tab. XII: Fettausscheidung im Kot in mg bzw. %

	o h n e	Cyclamat	m i t	Cyclamat
	abs.	rel.	abs.	rel.
Vers. I 7 % Fett	359,0 $\pm$ 18,0	100 $\pm$ 5,0	363,0 $\pm$ 36,0	101,1 $\pm$ 10,0
Vers. II 14 % Fett	1015,0 $\pm$ 217,0	100 $\pm$ 21,4	885,0 $\pm$ 172,0	87,2 $\pm$ 17,0
Vers. III 0,5 % Fett	124,0 $\pm$ 18,0	100 $\pm$ 14,5	114,0 $\pm$ 13,0	91,9 $\pm$ 10,5
Vers. IV 5 % Rohfaser	619,0 $\pm$ 115,0	100 $\pm$ 18,6	628,0 $\pm$ 111,0	101,5 $\pm$ 17,9
Vers. V 10 % Rohfaser	1116,0 $\pm$ 144,0	100 $\pm$ 12,9	1102,0 $\pm$ 93,0	98,7 $\pm$ 8,3
Vers. VI 0,% Rohfaser	1027,0 $\pm$ 103,0	100 $\pm$ 10,0	699,0 $\pm$ 129,0 ⁺)	68,1 $\pm$ 12,6

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1 \%$.

Auffallend ist weiterhin, daß in den Versuchen IV und V (Rohfaser, 5 und 10 %) die relative Fettausscheidung in beiden Gruppen auf 12 bzw. 17 % anstieg, gegenüber etwa 10 % in den ersten beiden Versuchen. Dies läßt den Schluß zu, daß bei steigendem Rohfasergehalt in der Kost die Fettresorption nicht so vollständig abläuft, wie es normalerweise der Fall ist. Die Ursache müßte wiederum in der beschleunigten Darmpassage zu suchen sein (17).

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß ein 2 %iger Cyclamatzusatz im Futter auch bei unterschiedlichem Gehalt an Fett und Rohfaser keinen Einfluß auf den Fettstoffwechsel ausübt, der sich in einer Störung der Fettbilanz äußern würde.

Ein weiteres Kriterium für die Verträglichkeit des Cyclamats war die Kotbeschaffenheit (s. Tabelle XIII).

Tab. XIII: Kotkonsistenz

	o h n e Cyclamat	m i t Cyclamat
Vers. I 7 % Fett	normal	Durchfall
Vers. II 14 % Fett	normal	weich, pasten- artig geformt
Vers. III 0,5 % Fett	normal	Durchfall
Vers. IV 5 % Rohfaser	normal	fast normal
Vers. V 10 % Rohfaser	normal	normal
Vers. VI 0 % Rohfaser	normal	Durchfall

Es ist bekannt, daß durch Cyclamat eine laxierende Wirkung hervorgerufen wird (8, 9, 20, 38, 42, 44). Sie tritt nach RICHARDS (42) bei Ratten bereits gelegentlich bei 2 % Cyclamat auf, nach anderen Autoren erst in höherer Konzentration. Als Ursache wird die osmotische Wirkung des nicht resorbierten Anteils des Cyclamats diskutiert und ist auch insbesondere von HWANG (20) nachgewiesen worden. Außerdem besteht ein Zusammenhang zwischen Cyclamat und erhöhter Peristaltik des Magen-Darmtrakts (20).

In den Versuchen I und VI (Normalkost) sowie III (0,5 % Fett) traten bei den Cyclamattieren heftige Durchfälle von breiiger, wässriger Konsistenz auf. Diese Befunde stimmen überein mit den Untersuchungen der oben genannten Autoren. Daß die Durchfälle bei 2 %iger Cyclamatgabe bereits so ausgeprägt waren, mag daran liegen, daß in diesen Versuchen halbsynthetische, also rohfaserfreie Kost, verabreicht wurde. Denn bei rohfaserhaltiger Kost in den Versuchen IV und V waren Durchfälle der Cyclamattiere nicht mehr nachweisbar.

Die Menge der Ballaststoffe im Darm nimmt durch den Rohfasergehalt in der Kost zu. Einerseits ist es möglich, daß die osmotische Wirkung des Cyclamats durch die Ballaststoffe abgeschwächt wird, wahrscheinlicher ist es aber, daß der absolute und infolge des Cyclamats vermehrte Wassergehalt des Kots sich nicht änderte, sondern lediglich durch den vermehrten Ballaststoffanteil kompensiert und damit maskiert wurde. Das würde bedeuten, daß höhere Cyclamatdosen auch bei rohfaserhaltiger Kost wiederum Durchfälle auslösen könnten.

Es läßt sich noch eine weitere Erklärungsmöglichkeit diskutieren. Bekannt ist, daß sich durch Ballaststoffe die Keimbesiedlung des Darms verstärkt. Dadurch kommt es zu einer besseren Ausnutzung der Nahrungsbestandteile. Bisher sind noch keine Untersuchungen über die Wirkung des Cyclamats auf die Darmflora durchgeführt worden. Wenn man davon ausgeht, daß Cyclamat die Darmflora schädigt, so könnte der auftretende Durchfall infolge unvollständiger Nahrungsausnutzung zumindest teilweise als Gärungs- oder Fäulnisdyspepsie anzusehen sein. Diese Hypothese könnte eine Erklärung geben für die signifikant verminderten Gewichtszunahmen, die bei höheren Cyclamatdosen auftreten (8, 9, 36, 37). Bei rohfaserreicher Kost könnte darnder schädigende Einfluß des Cyclamats auf die Darmflora durch eine verstärkte Keimbesiedlung kompensiert werden.

Im Versuch II (14 % Fett) führte eigenartigerweise die roh-faserfreie Kost bei den Cyclamattieren nicht zu Durchfällen. Trotz weicher, pastenartiger Konsistenz des Kots setzten die Cyclamattiere geformte Kotballen ab. Dieser Befund erlaubt nicht so viele Deutungsmöglichkeiten wie der im Versuch IV und V. Der Kotanfall war bei beiden Gruppen infolge des starken Fettgehaltes recht hoch. Es liegt nahe, daß sich die vermehrte Flüssigkeit im Kot der Cyclamattiere mit der erhöhten Kotmenge besser vermischt als mit einer geringen Kotmenge und somit eine Diarrhoe verschleiert wird. Ganz war dies nicht der Fall, da noch Unterschiede zum Kot der Kontrolltiere bestanden.

Bei genauer makroskopischer und mikroskopischer Untersuchung des Darmes in unserem Institut wurde gefunden, daß beginnend bei 2 % Cyclamatzufuhr im Futter die Zeichen einer Gastroenteritis auftreten. Wird eine fettreiche Nahrung verabreicht, so werden diese gastroenteritischen Reizerscheinungen zweifellos vermindert. Auch auf Grund dieser Tatsache dürfte das Sistieren der Diarrhoen bei den Cyclamattieren zu erklären sein, die 14 % Fett im Futter erhielten. Neben der Wirkung auf die Magen-Darmschleimhaut haben die Cyclamate die Eigenschaft durch Anziehen von Wasser eine osmotisch-laxierende Wirkung auszuüben. Ist die Füllung des Darms durch Ballaststoffe oder nicht resorbierte Nahrungsbestandteile erhöht, so braucht eine Diarrhoe, wie aus den Befunden hervorgeht, nicht unbedingt aufzutreten.

Eine Beurteilung der Gewichtszunahmen der Cyclamattiere ergibt in sämtlichen Versuchen gegenüber den Kontrolltieren keine signifikante Differenz. (s. Tabelle XIV).

Tab. XIV: Gewichtszunahmen in g bzw. %/Bilanz (1 Woche)

	o h n e abs.	Cyclamat rel.	m i t abs.	Cyclamat rel.
Vers. I 7 % Fett	16,9±3,9	100±22,8	17,4±3,2	103,0±18,8
Vers. II 14 % Fett	28,2±2,4	100± 8,4	28,4±3,5	100,7±12,5
Vers. III 0,5 % Fett	6,9±2,4	100±35,2	8,9±2,9	129,0±41,7
Vers. IV 5 % Rohfaser	9,4±2,5	100±26,3	8,7±2,4	92,5±25,0
Vers. V 10 % Rohfaser	17,3±3,3	100±19,1	18,0±2,0	104,1±11,3
Vers. VI 0 % Rohfaser	14,6±2,6	100±17,7	14,8±2,1	101,4±14,6

Die Einwirkung des Cyclamats auf das Wachstum, auch bei unterschiedlichem Fett- und Rohfasergehalt in der Kost, kann daher an unserem Versuchsmaterial bei 2 %iger Dosierung ausgeschlossen werden. Die Wachstumsverminderung, wie sie RICHARDS (42) bei 1 %iger Cyclamatzufuhr beobachtet hatte, konnte daher nicht bestätigt werden. Das Ergebnis stimmt aber mit den Arbeiten von FITZHUGH (8, 9) und NEES u. DERSE (36, 37) überein, die eine Wachstumsverminderung erst bei höheren Cyclamatdosen feststellten.

In weiteren Untersuchungen in unserem Institut wurde nachgewiesen, daß die Empfindlichkeit verschiedener Rattenstämme gegenüber Cyclamat außerordentlich große Unterschiede aufweist. Unser Tiermaterial gehörte einem gegenüber Cyclamat wenig empfindlichen Stamm an, so daß bei einer 2 %igen Cyclamatkonzentration keine Wachstumsverminderung gefunden wurde, während in anderen

Versuchen u.a. auch von VALACH (50) bereits eindeutig eine Wachstumsverminderung bei der gleichen Cyclamatdosis an anderen Rattenstämmen beobachtet wurde.

Interessant ist die Feststellung, daß im Versuch IV das Wachstum in beiden Gruppen gegenüber dem Versuch V (beide Versuche mit rohfaserhaltiger Kost) stark herabgesetzt war. Die Stickstoffretention war entsprechend vermindert. Es gibt nur die eine Erklärung, daß die Auswirkungen des vorangegangenen Versuchs (0,5 % Fett) sich bis auf diesen Versuch erstreckt haben, obwohl eine 7tägige Pause eingelegt war. Da die Störung des Wachstums im Versuch III (0,5 % Fett) erhebliche Ausmaße annahm, muß die von MC KENZIE u. MC COLLUM (23) festgelegte Grenze von 0,27 % Fett in der Kost angezweifelt werden, die ein normales Wachstum ermöglichen soll. Daß die Fettzufuhr in der Kost einen großen Einfluß auf das Wachstum ausübt, zeigt auch der Versuch II, in dem der Fettgehalt der Kost 14 % betrug. Das Wachstum nahm in beiden Gruppen rapide zu.

Eine bekannte Tatsache ist, daß der Wasserverbrauch durch Cyclamateinwirkung extrem gesteigert wird (s. Tabelle XV).

Zur Begründung des hohen Verbrauchs wird der starke Wasserverlust durch den Darm infolge der osmotischen Wirkung des nicht resorbierten Cyclamats herangezogen (9, 36, 37, 42, 50).

Bis auf Versuch I waren die Differenzen im Wasserverbrauch statistisch signifikant. Der erhöhte Bedarf in den Versuchen II (14 % Fett), IV (5 % Rohfaser) und V (10 % Rohfaser), in denen bei den Cyclamattieren kein Durchfall nachzuweisen war, läßt den Schluß zu, daß der Wasserverlust mit dem Kot doch erheblich gewesen sein muß, sich aber infolge der vermehrten Ballaststoffmenge nicht als Durchfall äußerte. Der unterschiedliche Fett- und Rohfasergehalt in der Kost ließ unter Cyclamatein-

wirkung keine Beziehung zu der Höhe des Wasserverbrauchs erkennen.

Tab. XV: Wasserverbrauch in ml bzw. %/Bilanz (1 Woche)

	ohne abs.	Cyclamat rel.	mit abs.	Cyclamat rel.
Vers. I 7 % Fett	92,0 $\pm$ 16,9	100 $\pm$ 18,4	103,3 $\pm$ 16,8	112,3 $\pm$ 18,3
Vers. II 14 % Fett	92,6 $\pm$ 12,1	100 $\pm$ 13,1	115,6 $\pm$ 20,3 ⁺⁺⁾	124,8 $\pm$ 21,9
Vers. III 0,5 % Fett	109,0 $\pm$ 29,9	100 $\pm$ 27,4	154,3 $\pm$ 38,9 ⁺⁺⁾	141,6 $\pm$ 35,7
Vers. IV 5 % Rohfaser	131,5 $\pm$ 34,4	100 $\pm$ 26,2	191,8 $\pm$ 63,9 ⁺⁺⁾	145,9 $\pm$ 48,6
Vers. V 10 % Rohfaser	172,9 $\pm$ 49,7	100 $\pm$ 28,7	235,8 $\pm$ 52,3 ⁺⁺⁾	136,4 $\pm$ 30,3
Vers. VI 0 % Rohfaser	128,2 $\pm$ 27,7	100 $\pm$ 21,6	167,7 $\pm$ 35,5 ⁺⁺⁾	130,8 $\pm$ 27,7

+) = Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 2 \%$.

++) = $P < 1 \%$.

Die makroskopische Untersuchung von Leber, Caecum und Schilddrüse, sowie deren Gewichte, ergaben keinen Anhalt dafür, daß eine 2 %ige Cyclamatgabe äußerlich sichtbare pathologische Veränderungen hervorruft. Damit konnten die signifikanten Gewichtsveränderungen von Leber und Caecum, die VALACH (50) teilweise schon bei 0,5 %iger Cyclamatgabe feststellte, nicht bestätigt werden.

Auch dieser Befund zeigt, daß unterschiedliche Rattenstämme recht verschieden auf Cyclamat reagieren können. VALACH (50)

arbeitete mit einem Royal-Wistar-Stamm, wir hingegen mit Sprague-Dawley-Ratten, die sich offenbar, wie oben schon erwähnt, stark resistent gegenüber Cyclamat verhielten. Im Einklang damit stehen die pathologisch-anatomischen Veränderungen einiger Organe, die bei VALACH (50) bereits bei dieser und geringerer Cyclamatkonzentration stark ausgeprägt waren, während sie bei den von uns verwendeten Ratten nicht in Erscheinung traten.

NEES u. DERSE (36, 37) wiesen in ihren Versuchen bei 5 %iger Cyclamatgabe eine signifikante Erhöhung des Schilddrüsengewichts bei Ratten nach und vermuteten eine Störung des Energiestoffwechsels. Es ist möglich, daß diese Veränderung erst bei höheren Cyclamatdosen, als sie bei uns verwendet wurden, oder aber nach länger dauernden Versuchen auftritt. An unserem Tiermaterial ergaben sich bei 2 %iger Cyclamatzufuhr nach 3monatiger Versuchsdauer jedenfalls keine signifikanten Differenzen.

G. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Beeinflussung der Stickstoff- und Fettbilanz bei wechselnder Kostzusammensetzung unter der Einwirkung von 2 % Cyclamat (peroral) an der Ratte studiert.

2 % Cyclamat als Zugabe zu dem Futter der Versuchstiere führt bei unterschiedlichen Ernährungsbedingungen zu **keiner** Beeinflussung der Stickstoffbilanz. In einigen Versuchen wurde eine scheinbar erhöhte Stickstoffretention beobachtet, die durch eine gesteigerte Gasbildung im Darm und dem damit zusammenhängenden Stickstoffverlust zurückgeführt werden konnte.

Die Fettbilanz wurde durch 2 % Cyclamat im Futter nicht beeinträchtigt.

Als bemerkenswerter Befund konnte herausgestellt werden, daß die durch 2 % Cyclamat bei den Versuchstieren hervorgerufene starke Diarrhoe sowohl bei fettreicher wie auch bei rohfaserhaltiger Kost völlig aufgehoben wird.

Cyclamatzufuhr führte zu einer erheblichen Steigerung des Wasserverbrauchs, während eine Korrelation zum Wachstum nicht ersichtlich war.

Der Sektionsbefund des gesamten Versuchstiermaterials ergab, daß Leber, Caecum und Schilddrüse keinerlei sichtbare makroskopisch-pathologische Veränderungen aufwies. Leber- und Caecumvergrößerung sowie die Gewichtsverminderung der Schilddrüse waren nicht signifikant.

Unterschiedliche Ernährungsbedingungen führen unter Cyclamat-einwirkung lediglich zu einer Beeinflussung der Kotkonsistenz, während eine Veränderung der Stickstoff- und Fettbilanz sowie der Gewichtszunahme selbst bei extremer Ernährungslage nicht ersichtlich wird.

H. LITERATURVERZEICHNIS

1. AUDRIETH, L.F. u. M. SVEDA: "Preparations and Properties of some N-substituted Sulfamic Acids", J.Organic.Chem. IX, S. 6 (1944)
2. BECK, K.M.: "Properties of the Synthetic Sweetening Agent, Cyclamate", Food Technology 11, S. 156 (1957)
3. BERNHARD, K.: Hoppe-Seyler's Z. 248, 256 (1937)
4. BUNGARD, G.: "Die Süßstoffe": Teil IVa: "Die Cyclamate", Der deutsche Apotheker, 19, 9 (1967)
"Die Süßstoffe": Teil IVb: "Die Cyclamate - Die physiologische Unbedenklichkeit der Cyclamate", Der deutsche Apotheker, 20, 4 (1968)
"Die Süßstoffe": Teil IVc: "Die Cyclamate - Die physiologische Unbedenklichkeit der Cyclamate", Der deutsche Apotheker, 20, 8 (1968)
"Die Süßstoffe": Teil Va: "Sonderprobleme - zur Frage der embryotoxischen und teratogenen Wirkung", 21, 6 (1969)
"Die Süßstoffe": Teil Vb: "Sonderprobleme - zur Frage der tumorbildenden Eigenschaften", 21, 11 (1969)
5. CLASSEN, H.G., P. MARQUARDT u. M. SPÄTH: "Sympathicomimetische Wirkungen von Cyclohexylamin", Arzneimittelforschung (Drug.Res.) 18, 590 (1968)
6. DERSE, P.H. u. R.J. DAUN: "A Gas - Liquid Chromatographic Method for the Determination of Cyclohexylamine Sulfamate Salts in Animal Excreta", Journ.of the A.O.A.C. 49, 1090 (1966)
7. DERSE, P.H. u. P.O. NEES: "The effect of feeding calcium cyclamate on the growth and reproduction of swine", Unpublished report on File in the Office of the Food Protection Committee, National Academy of Sciences, zit. nach 4 (Teil Va) (1967)
8. FITZHUGH, O.G. u. A.A. NELSON: "Comparison of the chronic toxicities of synthetic sweetening agents", Fed.Proc. 9, S. 272 (1950)
9. FITZHUGH, O.G., A.A. NELSON u. J.P. FRAWLEY: "A Comparison of the Chronic Toxicities of Synthetic Sweetening Agents", J.Amer.Pharm.Assoc. (Sci.Ed.) 40, 583 (1951)

10. FLASCHENTRÄGER, B. u. E. LEHNERTZ: "Physiologische Chemie", Ein Lehr- und Handbuch, Band II 1a, Springer Verlag, S. 215 (1954)
11. FLASCHENTRÄGER, B. u. E. LEHNERTZ: "Physiologische Chemie", Ein Lehr- und Handbuch, Band II 2b, Springer Verlag, S. 219 (1957)
12. FÖRSTER, H., H. MEHNERT u. H. FÖRSTER: "Die Süßstoffe und ihre Bedeutung für die Diätetik". Med. u. Ernährg. 6, 279 (1965)
13. GHIANI, P., R. ACCAME u. MURATORI: Forschungsbericht, Thema: "Teratogenese de cyclamates dans des embryons de poulet", C.E.F.S./C.S.C., Réunion scientifique, Paris 4.-5. Dec. (1968)
14. GLATZEL, H.: In "Handbuch der Inneren Medizin", Band VI/2, 4. Aufl., Springer Verlag, S. 394 (1954)
15. HERWIJNEN, J.C. VAN: "Die Verwendung von Saccharin und Cyclamaten in Lebensmitteln", Voeding 23, 401-408 (1962)
16. HÖTZEL, D. u. J. SÜLTEMEYER: "Zyklamate: Verwendung, Stoffwechsel, Toxikologie". I. Teil: Ernährungs-umschau 15, 6, S. 189 (1968)
II. Teil: Ernährungsumschau 15, 15, S. 232 (1968)
17. HOFF, F.: "Klinische Physiologie", 6. Aufl., Georg Thieme Verlag, S. 436 (1962)
18. HOFMANN, H.: Forschungsbericht, Thema: "Pharmacologie des Cyclamates", C.E.F.S./C.S.C., Réunion scientifique, Paris, 4.-5. Dec. (1968)
19. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER: "Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse", Band 5, 10. Aufl., Springer Verlag, S. 411, S. 419 (1953)
20. HWANG, K.: "Mechanism of the laxative effect of sodium sulfate, sodium cyclamate and calcium cyclamate", Arch.int. Pharmacodyn. 163, S. 302 (1966)
21. KAMER, J.H. VAN DE, H. TEN BOKKEL HUININK u. H.A. WEYERS: "Einfache Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes im Stuhl". The Journal of Biological Chemistry, Band 177, 1, S. 347 (1949)
22. KENNEDY, B., S. O'QUINN, W.J. PERRET, J.C. TILLEY u. V.M. HENINGTON: "Phototoxic and Photoallergic Skin Reactions Resulting from Modern Drug Therapy", J. Louisiana Med. Soc. 113, 365 (1961)

23. KENZIE, MAC, MC. COLLUM: "Growth and reproduction on a low fat diet". Biochemic. J. 33, 935 (1939)
24. KOBORI, T. u. H. ARAK: "Photoallergy in Dermatology. J. Asthma Res. 3, 213 (1966)
25. KOJIMA, S., H. ICHIBAGASE u. S. IGUCHI: "Studies on Synthetic Sweetening Agents: Absorption Excretion of Sodium Cyclamate". Chem.Pharm.Bull. 14, 959 u. 14, 965 (1966)
26. KOJIMA, S. u. H. ICHIBAGASE: "Cyclohexylamine, a Metabolite of Sodium Cyclamate". Chem.pharm. Bull. 14, 971 (1966)
27. KÜHN, H.A.: "Zucker als Nahrungsmittel sowie als Therapeutikum ... aus der Sicht des Klinikers". Ernährungsumschau Juni 1967, S. 177
28. LAMBERG, S.I.: "A New photosensitizer - The Artificial Sweetener Cyclamate". JAMA 201, 121 (1967)
29. LEAHY, J.S., M. WAKEFIELD u. T. TAYLOR: "Urinary Excretion of Cyclohexylamine Following Oral Administration of Sodium Cyclamate to Man". Food Cosmet.Toxicol. 5, 447 (1967)
30. LEAHY, J.S., T. TAYLOR u. C.J. RUDD: "Cyclohexylamine Excretors Among Human Volunteers Given Cyclamate". Bibra Bull. 6, 333 (1967)
31. LORKE, D.: "Untersuchungen von Cyclamat und Saccharin auf embryotoxische und teratogene Wirkung an der Maus". Arzneimittelforschung 19, 920 (1969)
32. LORKE, D.: "Zur Toxizität von Cyclamat für Mäuseembryonen". Arzneimittelforschung 19, 923 (1969)
33. MEHNERT, H.: "Über die relative Bedeutung von Süßstoffen und Zuckeraustauschstoffen in der diabetischen Führung von Diabeteskranken". DGE - Symposium, München, 24.10.1969
34. MILLER, J.P., L.E.M. CRAWFORD, R.G. SONNERS u. E.V. CARDINAL: "Distribution and Excretion of ¹⁴C-Cyclamate Sodium in Animals". Biochem.Biophys.Res. Communic. 25, 153 (1966)
35. MÜLLER-PLETTENBERG, D.: "Zucker und Arteriosklerose". DA 41, S. 2184 (1965)
36. NEES, P.O. u. P.H. DERSE: "Feeding and Reproduction of Rats fed Calcium Cyclamate". Nature 20, S. 81 (1965)

37. NEES, P.O. u. P.H. DERSE: "Effect of Feeding Calcium Cyclamate to Rats". Nature 213, 1191 (1967)
38. OLSEN, W.H.: "Tolerance Studies of Sucaryl on the Gastro-intestinal Tract", zit. nach 16. (II. Teil) (1955)
39. OSER, B.L., S. CARSON, E.E. VOGIN, R.C. SONNERS: "Chronic oral feeding studies with an artificial sweetening agent in Rats", zit. nach 4. (Teil Vb) (1968)
40. PALMER, A.K. u. M.A. FLETCHER: "Effect of Sodium and Calcium Cyclamate upon Pregnancy in the New Zealand White Rabbit", zit. nach 16. (Teil II) (1966)
41. PAUL, T.: "Der Süßungsgrad der Süßstoffe". Z.Unters.Nahrungs.-Genussmittel 43, 137 (1922)
42. RICHARDS, R.K., J.D. TAYLOR, J.L. O'BRIEN, H.O. DUESCHER: "Studies on Cyclamate Sodium (Sucaryl Sodium), A New Noncaloric Sweetening Agent". J.Amer. Pharm. Ass. 40, S. 1 (1951)
43. SANDERS, R.C. u. R.G. WIEGAND: Zit. nach Internationale Süßstoff-Information 38, 0294 (1968)
44. SCHOENBERGER, J.A., D.M. RIX, A. SAKAMOTO, J.D. TAYLOR u. R.M. KARK: "Metabolic Effects, Toxicity and Excretion of Calcium N-Cyclohexylsulfamate (Sucaryl) in Man". Am.J.Med.Sci. 225, 551 (1953)
45. TANAKA, R.: "The Toxicity of Artificial Sweeteners to Mouse Embryos". J.Japan.Soc., publ.Hyg. 11 (14), 1 (japanisch) (1964^a)
46. TANAKA, R.: "LD₅₀ of Saccharine or Cyclamate for Mouse Embryos in the 7th Day of Pregnancy (Fetal Median Lethal Dose: FLD₅₀)". J.Iwate Medical Assoc. 16 (5), 330 (1964^b)
47. TATSUJI, K. u. A. TOSHIE: "Photoallergic Dermatitis Probably Due to Artificial Sweetening Agents". Med. Culture 5, 795 (1963)
48. TÄUFEL, K. u. B. KLEMM: "Untersuchungen über natürliche und künstliche Süßstoffe". Z.Unters.Nahrungs.-Genussmittel 50, 263 (1925)
49. TAYLOR, J.D., R.K. RICHARDS u. J.G. DAVIN: "Excretion and Distribution of Radioactive S³⁵ Cyclamate Sodium in Animals". Proc.Soc.Exper.Biol. a.Med. 78, 530 (1951)

50. VALACH, I.: "Einfluß von Cyclamatgaben auf die Nährstoffverwertung, untersucht an Ratten". Inauguraldissertation der veterinärmedizinischen Institute in Giessen (1969)
51. VINCENT, C.M., M.J. LYNCH, F.M. POHLEY, F.J. HELGREN u. F.J. KIRCHMEYER: "A Taste Panel of Cyclamate Saccharin Mixture and of its Components". J.Amer.Pharm.Ass., Sc.Ed. 44, 442 (1955)
52. WILLIAMS, R.T.: "Detoxication Mechanisms". Chapman and Hall Ltd., 3. Aufl., S. 500 (1959)
53. WILMES, G.: "Zur Fütterung und Trennung von Kot und Harn beim Stoffwechselversuch mit Ratten". Arzneimittelforschung (drug research) 9, 1608 (1969)
54. YUDKIN, I.: "Zuckerverzehr und Herzerkrankungen". Ernährungsumschau 14 (1967)

LEBENS LAUF

Am 24.3.1942 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Kurt-Gerhard Oswald und dessen Ehefrau, geb. Becker, in Hamburg geboren. Von 1948 bis 1954 besuchte ich die Volksschule in Hamburg, wechselte dann auf das Kirchenpauer-Gymnasium, das ich im Frühjahr 1962 mit dem Abitur verließ. In der Sanitätstruppe des Heeres leistete ich einen zweijährigen Militärdienst ab, den ich als Leutnant der Reserve beendete.

Zum Sommersemester 1964 begann ich in Hamburg mit dem Studium der Medizin. Nach dem Physikum setzte ich das Studium an der Universität Giessen fort. Im Sommer 1967 begann ich am Institut für Ernährungswissenschaft I meine Doktorarbeit. Das medizinische Staatsexamen legte ich im Juli 1970 mit Erfolg ab.

Ich danke Herrn Prof. Dr. H.D. C r e m e r für die Möglichkeit, den experimentellen Teil meiner Doktorarbeit an seinem Institut durchführen zu können, ferner für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes sowie die Benutzung der Geräte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. H o f - m a n n , mit dem ich viele klärende Gespräche führte und dessen wertvolle Anregungen mir von großem Nutzen waren.

